



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

GENÉTICA Y DINÁMICA POBLACIONAL DE LA  
TOTOABA (*Totoaba macdonaldi*, Gilbert, 1891) EN EL  
GOLFO DE CALIFORNIA

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
( Orientación Biología Marina )

Presenta

**FAUSTO VALENZUELA QUIÑONEZ**

La Paz, Baja California Sur, Mayo de 2014

## ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10:00 horas del día 10 del Mes de Mayo del 2014, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**"GENÉTICA Y DINÁMICA POBLACIONAL DE LA TOTOABA (*Totoaba macdonaldi*, Gilbert, 1891) EN EL GOLFO DE CALIFORNIA"**

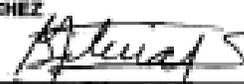
Presentada por el alumno:

**FAUSTO VALENZUELA QUIÑONEZ**

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN BIOLOGÍA MARINA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISION REVISORA

|  |  |
|--|--|
| <br>_____<br>DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA DE LEÓN<br>CO-DIRECTOR               | <br>_____<br>DR. ANTONIO DE ANDA MONTAÑEZ<br>CO-DIRECTOR |
| <br>_____<br>DR. FRANCISCO ARREGUÍN SÁNCHEZ<br>CO-TUTOR                       | <br>_____<br>DR. JOHN CARLOS GARZA<br>CO-TUTOR           |
| <br>_____<br>DRA. SILVIA SALAS MÁRQUEZ<br>CO-TUTOR                            |  |
| <br>_____<br>DRA. ELISA FERRER ZARAGOZA,<br>DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO |  |

## **COMITÉ TUTORIAL**

**Dr. Francisco Javier García de León**

Co-Director de Tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, B.C.S., México.

**Dr. Juan Antonio de Anda Montañez**

Co-Director de Tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, B.C.S., México.

**Dr. Francisco Arreguín Sánchez**

Co-Tutor

Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, B.C.S., México.

**Dr. John Carlos Garza**

Co-Tutor

South West Fisheries Science Center, National Oceanic and Atmospheric Administration, Santa Cruz, CA. E.U.

**Dra. Silvia Salas Márquez**

Co-Tutor

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Mérida, Yucatán, México.

## **COMITÉ REVISOR DE TESIS**

### **Dr. Francisco Javier García de León**

Co-Director de Tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, B.C.S., México.

### **Dr. Juan Antonio de Anda Montañez**

Co-Director de Tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, B.C.S., México.

### **Dr. Francisco Arreguín Sánchez**

Co-Tutor

Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, B.C.S., México.

### **Dr. John Carlos Garza**

Co-Tutor

South West Fisheries Science Center, National Oceanic and Atmospheric Administration, Santa Cruz, CA. E.U.

### **Dra. Silvia Salas Márquez**

Co-Tutor

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Mérida, Yucatán, México.

## **JURADO DE EXÁMEN**

Dr. Francisco Javier García de León

Dr. Juan Antonio de Anda Montañez

Dr. John Carlos Garza

Dra. Silvia Salas Márquez

Dr. Ricardo Pérez Enriquez

## **SUPLENTE:**

Dr. Eduardo Balart

## RESUMEN

Muchos de los stocks de peces en el mundo necesitan recuperarse del colapso o sobreexplotación, y en algunos casos dichos recursos pesqueros han sido listados en alguna categoría de riesgo de extinción. Las poblaciones de peces presentan un amplio rango de respuestas a la presión de pesca, que van desde las reducciones en biomasa, alteraciones en la composición demográfica, hasta posibles reducciones del potencial evolutivo. La totoaba fue el primer caso de pez marino considerado como en peligro crítico de extinción, y aquí es utilizado como caso de estudio. Se realizó una evaluación de los niveles de diversidad genética con la intención de conocer el número de unidades poblacionales y si la explotación pesquera que sufrió la especie el siglo pasado tuvo un efecto en el potencial evolutivo de la especie, además se efectuó un análisis demográfico para conocer el estado de la población, así como identificar los parámetros demográficos más relevantes de la totoaba en el Golfo de California. La diversidad genética medida mediante loci microsatélites se encontró dentro del rango observado en otras especies de la familia Sciaenidae. Con el uso de diferentes metodologías (*AMOVA*,  $D_c$ ,  $F_{st}$  e *inferencia Bayesiana*) no se pudo rechazar la hipótesis de panmixia para totoaba en el Golfo de California. Asimismo, no se observó evidencias de un cuello de botella a una escala contemporánea al usar la prueba de exceso de heterocigosidad y la tasa  $M$ . Por lo que se concluye que la totoaba no sufrió una pérdida de diversidad genética cuantificable debido al colapso poblacional que sufrió a mediados del siglo pasado; sin embargo, mediante métodos de coalescencia, se detectó una importante reducción en el tamaño efectivo poblacional ancestral hace 7,413 años (90%IC: 926–72,144). Por su parte, el tamaño efectivo poblacional actual ( $N_e = 1803$ –2680), permite mantener el potencial evolutivo de la especie, así como implementar medidas de conservación a largo plazo. La totoaba aún conserva sus características de historia de vida en el Golfo de California. El análisis demográfico mostró que la población tiene el potencial de crecimiento bajo condiciones de no pesca ( $\lambda = 1.47$ ; IC90%: 1.30-1.66). Las elasticidades de supervivencia fueron mayores que las elasticidades de la fecundidad; la supervivencia de juveniles presentó mayores elasticidades que los adultos. Las elasticidades de supervivencia disminuyeron en función de la edad, a partir de la edad de primera madurez. El análisis de riesgo, mostró que el riesgo de sobrepasar el punto de referencia límite con respecto a la tasa de crecimiento poblacional [ $P$  ( $\lambda < 1$ )] disminuye al incrementar la edad de primera captura, a edades posteriores de la edad de primera madurez. Las evidencias de los estudios realizados sugieren que la población de totoaba en el Golfo de California, no se dirige hacia la extinción, sin embargo, dadas sus características de historia de vida es una especie vulnerable a la sobreexplotación.

## ABSTRACT

Several fish stocks need to recover from fishery collapse or overexploitation; some of them have been listed as endangered. Fisheries induce changes in population, such as reduction in biomass, changes in demographic composition, and may reduce evolutionary potential. Totoaba was the first marine fish listed as critically endangered and it is used as subject of study. Analyses of genetic diversity assessed the population structure and whether the fishery collapse of the last century reduced its evolutionary potential. Demographic analyses were performed to assess the productive potential, based on the population growth rate, and identify the more important vital rates of the population. Genetic diversity inferred by microsatellite loci showed similar values as other sciaenid fish. Population structure analysis did not reject panmixia in the Gulf of California by any statistical method (AMOVA,  $D_c$ ,  $F_{st}$ , and Bayesian inference). Contemporary bottleneck results of heterozygosity excess and  $M$ -ratio did not detect contemporary loss of genetic diversity. Hence, totoaba does not show a measurable loss of genetic diversity related to the fishery collapse of the last century. However, the long-term coalescent method detected population reduction of the ancestral effective population size 7,413 (90%IC: 926–72,144) years ago. Despite this reduction, current effective population size ( $N_e = 1803–2680$ ) is large enough for totoaba to keep its evolutionary potential. Demographic analysis showed that the population is able to grow ( $\lambda = 1.47$ ; IC90%: 1.30–1.66) when there is no mortality from fishing. Elasticity results showed that survival has higher elasticities than fecundity, and survival elasticities were higher for juvenile than adults. Risk analysis indicates that risk of exceeding the limit reference point [ $P(\lambda < 1)$ ], decreases when increase the age at first capture. These analyses indicate that the totoaba do not present characteristics of a species that is being driven to extinction. However, totoaba is vulnerable to overexploitation, given its life history characteristics.

**DEDICATORIA**

*A mi esposa y familia quienes me motivan a seguir adelante dia a dia*

## AGRADECIMIENTOS

A las instituciones que hicieron posible mi formación de posgrado. A CONACYT por la beca (46305) otorgada para la realización de mis estudios de doctorado. Al CIBNOR por darme la formación académica, así como todas las facilidades para realizar esta investigación. A CONABIO y CONACYT por el financiamiento otorgado al proyecto totoaba.

Al departamento de Posgrado de CIBNOR a la Dra. Elisa Serviere a quien agradezco profundamente su apoyo desde los inicios del doctorado. A la Lic. Osvelia Ibarra por sus atinados consejos y regaños que me hicieron crecer a lo largo de estos años. También a la Lic. Leticia, Claudia Olachea y Tania Nuñez por su gran disposición para cualquier cosa y que siempre nos regalan una sonrisa cuando las buscamos. A Horacio Sandoval por su gran disposición y paciencia para resolver cualquier situación y siempre con una actitud propositiva.

Al comité tutorial, principalmente a mis directores Dr. Francisco Javier García de León y Dr. Juan Antonio de Anda Montañez por su confianza y apoyo incondicional desde las primeras etapas de mi formación académica y hasta el final. Al Dr. John Carlos Garza por el gran apoyo brindado al haberme recibido en su laboratorio para la obtención de los genotipos de totoaba. Al Dr. Francisco Arreguín Sánchez, por los consejos y críticas a lo largo del trabajo de tesis. A la Dra. Silvia Salas quien siempre me dio una visión diferente (más filosófica) del trabajo desarrollado.

A todos los integrantes del Totoaba Team!!! Toño, Lucia Campos, Juan Ramírez, Norma Monroy, Martha Román, Marcela Vélez, José Saldaña, Laura Rivera así como a las federaciones de pescadores del Alto Golfo por su invaluable ayuda en todas las colectas de campo. Sin ustedes este trabajo no hubiese sido posible!

A mis compañeros del laboratorio de Genética para la Conservación GENCON!: Miguel, Rubén, David, Saris, Cari, Cris, Caro, Emiliano, Tania, Paulina, Ricardo. Un equipo de trabajo impresionante a quienes admiro profundamente primero por su calidad humana y en segundo lugar por la alta calidad académica de todos. Nunca había

estado en un equipo de trabajo tan capaz, me siento orgulloso de pertenecer a GENCON.

A los miembros actuales y pasados del laboratorio de BQ: Fer, Ann, Julio, Pato, Cris, Claudia, Betzy, Lilí, Balám, quienes también me adoptaron de una u otra manera dentro de sus filas y me hicieron participe dentro de sus convivencias. También a los miembros del Laboratorio de Fisiología de Mosquitos de FIU por el espacio otorgado, en la parte final de la tesis así como por la sana convivencia con todos gracias: Fernando Noriega, Marcela Nouzova, Mario Pérez, Maria Areiza, Stefano Correa y Cris!!!

A las amistades incondicionales y roomates con quienes compartí más tiempo y afecto. A Pato por su amistad y apoyo incondicional a lo largo de todos estos años. También, por sus enseñanzas y consejos de vida para ver una misma imagen desde diferentes perspectivas. A Luis Leyva un ser humano impresionante de quien debemos aprender más, acerca de lo que hace, y no de lo que le preguntamos. A Oswaldo un compadre que no se encuentra todos los días, gracias por sopórtame (por una semana jajajaja!!!) cada vez que me sentía triste o afligido, por siempre dar esa palmada en el hombro cuando una más lo necesitaba.

Agradezco el cariño, paciencia y el fuerte soporte emocional de mi amada esposa Crisalejandra Rivera Pérez, quien siempre me ha impulsado a seguir adelante. A dar más de lo que se puede dar, eres alguien a quien amo y admiro con toda el alma.

A todas las personas que de una u otra manera compartieron estos años me hicieron la vida más llevadera: Pato, Luis, Mariana, Oswaldo, Miguel, Rubén, David, Saris, Cari, Cris, Caro, Emiliano, Tania, Paulina, Ricardo, Ever, Marce, Ariel, Amaury, Rafita, Calin, David (colita), Chio, Mirta etc...

## CONTENIDO

|  |     |
|--|-----|
| RESUMEN .....                                      | i   |
| ABSTRACT .....                                     | ii  |
| DEDICATORIA .....                                  | iii |
| AGRADECIMIENTOS .....                              | iv  |
| CONTENIDO .....                                    | vi  |
| LISTA DE FIGURAS .....                             | ix  |
| LISTA DE TABLAS .....                              | xii |
| LISTA DE SÍMBOLOS .....                            | xiv |
| 1. INTRODUCCIÓN .....                              | 1   |
| 2. ANTECEDENTES .....                              | 4   |
| 2.1 Categorías de amenaza.....                     | 4   |
| 2.2 Marcadores moleculares y conservación .....    | 5   |
| 2.3 Demografía poblacional y conservación.....     | 8   |
| 2.4 Estudios sobre <i>Totoaba macdonaldi</i> ..... | 11  |
| 2.4.1 Distribución y patrones de migración .....   | 11  |
| 2.4.2 Pesquería .....                              | 12  |
| 2.4.3 Normatividad.....                            | 13  |
| 2.4.4 Hipótesis de disminución poblacional .....   | 14  |
| 3. JUSTIFICACIÓN.....                              | 15  |
| 4. OBJETIVO GENERAL .....                          | 16  |
| 4.1 Objetivos particulares .....                   | 16  |
| 5. HIPÓTESIS .....                                 | 17  |
| 6. MATERIAL Y MÉTODOS .....                        | 18  |
| 6.1 Trabajo de campo.....                          | 18  |
| 6.2 Trabajo de laboratorio.....                    | 19  |
| 6.2.1 Extracción y visualización de ADN .....      | 19  |
| 6.2.2 Amplificación de microsatélites.....         | 19  |
| 6.3 Análisis de datos .....                        | 21  |
| 6.3.1 Análisis de datos genéticos .....            | 21  |
| 6.3.1.1 Calidad de los marcadores genéticos.....   | 21  |
| 6.3.1.1.1 Presencia de alelos nulos .....          | 21  |
| 6.3.1.1.2 Desequilibrio de ligamiento.....         | 21  |
| 6.3.1.2 Diversidad genética .....                  | 22  |

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| 6.3.1.3     | Análisis de estructura poblacional.....                                  | 22 |
| 6.3.1.3.1   | Análisis de Varianza Molecular (AMOVA).....                              | 23 |
| 6.3.1.3.2   | Distancias genéticas.....  | 23 |
| 6.3.1.3.3   | Índice de fijación de Wright ( <i>F<sub>st</sub></i> ).....              | 23 |
| 6.3.1.3.4   | Inferencia Bayesiana.....  | 24 |
| 6.3.1.4     | Evaluación de demografía–histórica.....                                  | 24 |
| 6.3.1.4.1   | Demografía–histórica reciente.....                                       | 25 |
| 6.3.1.4.2   | Demografía–histórica de largo plazo.....                                 | 26 |
| 6.3.1.5     | Estimación del tamaño efectivo poblacional ( <i>N<sub>e</sub></i> )..... | 27 |
| 6.3.1.5.1   | Fórmula de Nei (1987).....   | 27 |
| 6.3.1.5.2   | Desequilibrio de ligamiento.....   | 28 |
| 6.3.1.5.3   | Métodos Bayesianos.....  | 28 |
| 6.3.2       | Dinámica poblacional.....  | 29 |
| 6.3.2.1     | Análisis de estructura de tallas.....                                    | 29 |
| 6.3.2.2     | Relaciones biométricas.....  | 31 |
| 6.3.2.2.1   | Relación longitud-peso.....  | 31 |
| 6.3.2.2.1   | Relación longitud total-longitud estándar.....                           | 31 |
| 6.3.2.3     | Madures sexual.....  | 31 |
| 6.3.2.4     | Fecundidad.....  | 32 |
| 6.3.2.5     | Selectividad.....  | 32 |
| 6.3.2.5.1   | Distribución gamma.....  | 32 |
| 6.3.2.5.2   | Distribución normal.....   | 32 |
| 6.3.2.5.3   | Distribución log–normal.....   | 33 |
| 6.3.2.6     | Mortalidad.....  | 33 |
| 6.3.2.6.1   | Mortalidad total ( <i>Z</i> ).....                                       | 33 |
| 6.3.2.6.2   | Mortalidad natural ( <i>M</i> ).....                                     | 33 |
| 6.3.2.6.2.1 | Método Beverton y Holt (1959).....                                       | 34 |
| 6.3.2.6.2.2 | Método de Rikther y Efanov(1976).....                                    | 34 |
| 6.3.2.6.2.3 | Método de Hoenig(1983) Hewitt y Hoenig(2005).....                        | 34 |
| 6.3.2.6.2.4 | Método de Pauly (1980).....  | 35 |
| 6.3.2.6.2.5 | Método de Gislason et al. (2010).....                                    | 35 |
| 6.3.2.7     | Modelo Demográfico.....  | 36 |
| 6.3.2.7.1   | Parámetros demográficos.....   | 37 |
| 6.3.2.7.2   | Escenarios de manejo.....  | 38 |
| 6.3.2.7.3   | Análisis de riesgo.....  | 38 |
| 7.          | RESULTADOS.....  | 41 |
| 7.1.        | Genética de poblaciones.....   | 41 |
| 7.1.1.      | Calidad de los marcadores.....   | 41 |
| 7.1.2       | Diversidad genética por localidad.....                                   | 42 |
| 7.1.3       | Estructura Genético Poblacional.....                                     | 47 |

|           |   |     |
|-----------|---|-----|
| 7.1.3.1   | Análisis de Varianza Molecular (AMOVA).....                   | 47  |
| 7.1.3.2   | Análisis espacial .....                                       | 49  |
| 7.1.3.2.1 | Árbol de distancias genéticas.....                            | 49  |
| 7.1.3.2.2 | Índice de fijación de Wright ( <i>F<sub>st</sub></i> ).....   | 49  |
| 7.1.3.2.3 | Inferencia Bayesiana.....                                     | 51  |
| 7.1.3.3   | Análisis por cohortes .....                                   | 52  |
| 7.1.3.3.1 | Árbol de distancias genéticas.....                            | 52  |
| 7.1.3.3.2 | Índice de fijación de Wright ( <i>F<sub>st</sub></i> ).....   | 53  |
| 7.1.3.3.3 | Inferencia Bayesiana.....                                     | 54  |
| 7.1.4     | Demografía–histórica .....                                    | 56  |
| 7.1.4.1.  | Diversidad genética de totoaba como población panmítica ..... | 56  |
| 7.1.4.2   | Inferencia de cambios demográficos en el pasado .....         | 57  |
| 7.1.5     | Tamaño efectivo poblacional ( <i>N<sub>e</sub></i> ).....     | 59  |
| 7.2       | Dinámica poblacional .....                                    | 60  |
| 7.2.1     | Estructura de tallas .....                                    | 60  |
| 7.2.2     | Parámetros poblacionales .....                                | 63  |
| 7.2.2.1   | Relaciones biométricas .....                                  | 63  |
| 7.2.2.2   | Talla de primera madurez .....                                | 64  |
| 7.2.2.3   | Fecundidad .....  | 65  |
| 7.2.2.3   | Mortalidad .....  | 65  |
| 7.2.2.4   | Selectividad .....  | 66  |
| 7.2.3     | Análisis demográfico.....                                     | 69  |
| 7.2.3.1   | Elasticidad .....   | 69  |
| 7.2.3.2   | Escenarios.....   | 70  |
| 7.2.3.3   | Análisis de riesgo .....                                      | 74  |
| 7.        | DISCUSIÓN.....  | 77  |
| 7.1       | Datos genéticos .....   | 77  |
| 7.1.2     | Diversidad genética .....                                     | 77  |
| 7.1.3     | Estructura genética .....                                     | 79  |
| 7.1.4     | Demografía–histórica .....                                    | 82  |
| 7.1.5     | Tamaño efectivo poblacional .....                             | 84  |
| 7.2       | Datos demográficos .....                                      | 88  |
| 7.2.1     | Estructura de tallas e historia de vida.....                  | 88  |
| 7.2.2     | Demografía poblacional .....                                  | 93  |
| 7.3       | Estado de conservación de la totoaba .....                    | 97  |
| 8.        | CONCLUSIONES.....   | 101 |
| 9.        | REFERENCIAS .....   | 103 |
| 10.       | ANEXOS .....  | 129 |

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Distribución de los diferentes estadios de totoaba en el Golfo de California. (1) Adultos (7-25 años) desovan cerca del Río Colorado; (1) los juveniles permanecen durante los primeros dos años en la misma zona; (2) los juveniles y pre-adultos (3-6 años) se concentran al sur de la zona de desove y crianza; (3) en el invierno los pre-adultos y adultos migran a la zona más sureña por la parte continental. Modificado de Cisneros-Mata et al., (1997)..... 12
- Figura 2. Área de estudio en el Golfo de California. Distribución histórica reportada para totoaba (gris claro). Reserva de Alto Golfo y delta de Río Colorado (gris oscuro). Las estrellas indican los sitios de recolecta: Zona núcleo (n = 170), Roca Consag (n = 65), Sur de San Felipe (n = 15), San Luis Gonzaga 2010 (n = 85), Desemboque (n = 6), Bahía de Lobos (n= 21), Río Fuerte (n = 1). ..... 18
- Figura 3. Árbol de distancias genéticas no enraizado, basado en la distancia genética ( $D_E$ ) (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) de *Totoaba macdonaldi* usando 16 loci microsatélites para las localidades muestreadas en el Golfo de California: Zona Núcleo (ZN), Roca Consag (RC), Sur de San Felipe (SSF), San Luis Gonzaga (SLG), Desemboque (DES) y Bahía de Lobos (BL). El árbol fué construido en base al método del *Neighbor-Joining*, el soporte de las ramas está basado en 10,000 réplicas. Los valores al interior de las ramas son los valores de *bootstrap*..... 50
- Figura 4. Representa el número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California con 16 loci microsatélites en base al valor promedio del logaritmo de la verosimilitud de  $K[\text{LnP}(K)]$  inferida por STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) para las diferentes localidades. Cada valor promedio de  $\text{LnP}(K)$  fue estimado a partir de 10 repeticiones de  $K$ . ..... 51
- Figura 5. Número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California con 16 loci microsatélites en base al método del cambio de la tasa de verosimilitud ( $\Delta K$ ) para las diferentes localidades (Evanno *et al.*, 2005). ..... 52
- Figura 6. Árbol de distancias genéticas no enraizado, basado en la distancia genética ( $D_E$ ) (Cavalli-Sforza and Edwards, 1967) para las cohortes de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California mediante 16 loci microsatélites. Se muestran las distancias entre las cohortes: de 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008 y 2009. El árbol fue construido en base al método del *Neighbor-Joining*, el soporte de las ramas está basado en 10,000 bootstrap. Los valores al interior de las ramas son los valores de *bootstrap*. ..... 53
- Figura 7. Representa el número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) entre las cohortes de *Totoaba macdonaldi* el Golfo de California con 16 loci micrsatelites en base al

|  |    |
|--|----|
| valor promedio del logaritmo de la verosimilitud de $K$ [ $\text{LnP}(K)$ ] inferida por STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) para las diferentes cohortes. Cada valor promedio de $\text{LnP}(K)$ fue estimado a partir de 10 repeticiones.....   | 55 |
| Figura 8. Número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) entre las cohortes de <i>Totoaba macdonaldi</i> en el Golfo de California, en base al método del cambio de la tasa de verosimilitud ( $\Delta K$ ) para las cohortes analizadas (Evanno et al., 2005).....   | 55 |
| Figura 9. Estructura de tallas y grupos modales de totoaba registrados en el Golfo de California. a) Estructura de tallas general, b) estructura de tallas de juveniles, c) estructura de tallas para hembras y d) estructura de tallas para machos. ....  | 61 |
| Figura 10. Estructura de tallas y grupos modales de totoaba registrados en diferentes localidades del Golfo de California. a) Zona núcleo, b) Roca Consag, c) sur de San Felipe, d) San Luis Gonzaga, e) Desemboque y f) Bahía de Lobos. ....  | 62 |
| Figura 11. Relaciones biométricas de totoaba. a) Relación longitud total-peso total general, b) relación longitud total-peso total para hembras, b) relación longitud total-peso total para machos y d) relación longitud total-longitud patrón. ....  | 63 |
| Figura 12. Proporción de individuos maduros en función de la talla para totoaba. Valores observados (puntos negros), proporción estimada por el modelo logístico (línea continua) y talla de primera madurez (línea roja punteada). a) talla de primera madurez general, b) talla de primera madurez para hembras y c) talla de primera madurez para machos.....   | 64 |
| Figura 13. Fecundidad total parcial por kilogramo para totoaba en función de la longitud total. ....   | 65 |
| Figura 14. Estructura de tallas y probabilidad de selectividad para totoaba en base tres tipos de distribución: gamma, normal y log-normal para a) red y b) caña. La línea roja punteada marca el corte del rango de selectividad al 25% ( $V_n25\%$ ) y 75% ( $V_n75\%$ ). ....   | 67 |
| Figura 15. Elasticidades de $\lambda$ para cambios en la supervivencia a la edad ( $S_n$ ) y la fecundidad a la edad ( $f_n$ ) para totoaba. Las barras representan $f_n$ y la línea con diamantes $S_n$ . ....  | 69 |
| Figura 16. Resultados de 10,000 simulaciones del valor más probable de $\lambda$ tomando en cuenta la incertidumbre en los parámetros de historia de vida de <i>Totoaba macdonaldi</i> asumiendo $F = 0$ . ....  | 70 |
| Figura 17. Relación entre la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) y la mortalidad por pesca ( $F$ ) a diferentes edades de primera captura (3, 5, 7, 9, 11 y 13 años) asumiendo la selectividad tipo filo de cuchillo. Cada nivel de $F$ representa 10,000 simulaciones, la línea horizontal dentro de la caja representa a la mediana (50%). El rango inter-cuartil es el límite superior e inferior de la caja y representa los cuartiles al 25% y 75%, respectivamente. Las líneas fuera de las cajas ( <i>Whiskers</i> ) representan 1.5 veces el rango inter-cuartil. Los puntos fuera de los Whisker representan valores extremos ( <i>outliners</i> ). La línea roja representa el nivel crítico de $\lambda = 1$ donde la población permanece estable. .... | 72 |

Figura 18. Relación entre la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) y la mortalidad por pesca (F) a diferentes edades de primera captura (3, 5, 7, 9, 11 y 13 años) asumiendo la selectividad basada en una distribución normal. Cada nivel de F representa 10,000 simulaciones, la línea horizontal dentro de la caja representa a la mediana (50%). El rango inter-cuartil es el límite superior e inferior de la caja y representa los cuartiles al 25% y 75%, respectivamente. Las líneas fuera de las cajas (*Whiskers*) representan 1.5 veces el rango inter-cuartil. Los puntos fuera de los *Whisker* representan valores extremos (*outliners*). La línea roja representa el nivel crítico de  $\lambda = 1$  donde la población permanece estable. .... 73

## LISTA DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| Tabla I. Microsatélites utilizados en el presente estudio, incluye número de acceso al GeneBank, motivo repetido, secuencia flanqueante, tamaño esperado y temperatura de alineamiento (Ta). Diseñados para <i>Totoaba macdonaldi</i> , (García-de-León <i>et al.</i> , 2010) y amplificación cruzada de <i>Cynoscion ocellatus</i> (O'Malley <i>et al.</i> , 2003). ....   | 20 |
| Tabla II. Parámetros demográficos de totoaba en el Golfo de California. ....  | 40 |
| Tabla III. Estimación de la proporción de alelos nulos para los 19 loci microsatélites utilizados en <i>Totoaba macdonaldi</i> capturada en el Golfo de California. La proporción fue calculada mediante el método de Depmster (1977) implementado en FreeNa (Chapuis y Estoup, 2007). La proporción de alelos nulos puede considerarse como: bajos (< 0.05), moderada (0.05–0.20) y altos (> 0.20).....  | 41 |
| Tabla IV. Valores de diversidad genética de 18 loci microsatélites de totoaba por localidad por locus. Tamaño efectivo de muestra ( $N$ ), número de alelos ( $\omega$ ), número de alelos efectivos ( $\omega_e$ ), riqueza alélica ( $R$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), heterocigosidad esperada insesgada ( $uH_e$ ), índice de fijación ( $F_{is}$ ), valor de significancia de índice de fijación respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg. Los valores sombreados con gris representan valores significativos. ....      | 43 |
| Tabla V. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para diferentes agrupaciones de posibles niveles de estructuración genética en tres modelos: a) espacial entre las diferentes localidades de muestreo, b) cohortes por localidad c) cohortes. ....  | 48 |
| Tabla VI. Estimaciones de las comparaciones pareadas de $F_{st}$ (Weir y Cockerham, 1984) para <i>Totoaba macdonaldi</i> mediante 16 loci microsatélites entre las diferentes localidades del Golfo de California. En la diagonal inferior de la tabla se muestran los valores de $F_{st}$ y en la diagonal superior el nivel de significancia ( $p$ ). ....  | 50 |
| Tabla VII. Estimaciones de las comparaciones pareadas de $F_{st}$ (Weir and Cockerham, 1984) entre las diferentes cohortes de <i>Totoaba macdonaldi</i> en el Golfo de California mediante 16 loci microsatélites. En la diagonal inferior de la tabla se muestran los valores de $F_{st}$ y en la diagonal superior el nivel de significancia ( $p$ ). Los valores sombreados con gris representan valores significativos de $p \leq 0.05$ y los que se encuentran en negritas son significativos después de la corrección de Bonferroni a nivel de $p \leq 0.0024$ . .... | 54 |
| Tabla VIII. Valores de diversidad genética de totoaba del Golfo de California. Tamaño de efectivo de muestra ( $N$ ), número de alelos ( $\omega$ ), número efectivo de alelos ( $\omega_e$ ), riqueza alélica ( $R$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), índice de fijación ( $F_{is}$ ), Equilibrio de Hardy-Weinberg ( $H-W$ ) and tasa-M ( $M$ ). ....   | 57 |
| Tabla IX. Estadísticos para detectar exceso de heterocigosidad en <i>Totoaba macdonaldi</i> en el Golfo de California con la prueba de rangos de Wilcoxon con el modelo de mutación de dos fases (TPM) con tres diferentes valores de parámetros de   |    |

|   |    |
|---|----|
| mutaciones de un paso (SSM). También se presenta la evaluación cualitativa de la prueba <i>mode-shift</i> implementada en BOTTLENECK (Piry <i>et al.</i> , 1999). .....   | 58 |
| Tabla X. Demografía-histórica de largo plazo de <i>Totoaba macdonaldi</i> en el Golfo de California inferida a partir de 16 loci microsatélites. Estimaciones de densidad del actual $N_e$ ( $N_0$ ) y del ancestral $N_e$ ( $N_1$ ) y el tiempo transcurrido desde el inicio de la disminución poblacional en años ( $T_a$ ). Se muestran los intervalos de confianza (IC) al 90% de probabilidad..... | 58 |
| Tabla XI. Estimaciones de tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) e intervalo de confianza (IC) inferido a partir de 16 loci microsatélites para totoaba. ....  | 59 |
| Tabla XII. Valores de los parámetros del modelo logístico para la estimación de talla de primera madurez general, así como para hembras y machos. $a$ = parámetro de ajuste, $L_{mat50\%}$ = longitud a la cual el 50% de la población se encuentra madura. ....  | 64 |
| Tabla XIII. Estimaciones de mortalidad natural (M) mediante diferentes métodos, así como la estimación de mortalidad total (Z) mediante el método de curva de captura linealizada para totoaba en el Golfo de California. ....  | 66 |
| Tabla XIV. Parámetros de los diferentes modelos de selectividad para caña y red. ....   | 67 |
| Tabla XV. Talla de primera captura ( $V_{n50\%}$ ) y rango de selectividad al 25% ( $V_{n25\%}$ ) y 75% ( $V_{n75\%}$ ) para totoaba en base a tres tipos de distribución para caña y red. Todos los valores son en base a la longitud total en mm. ....  | 68 |
| Tabla XVI. Valores de probabilidad del riesgo de sobrepasar los puntos de referencia límite (PRL) y objetivo (PRO) asumiendo mortalidad por pesca tipo filo de cuchillo a partir de diferentes edades de primera captura. ....  | 75 |
| Tabla XVII. Valores de probabilidad del riesgo de sobrepasar los puntos de referencia límite (PRL) y objetivo (PRO) asumiendo mortalidad por pesca variable en función de la selectividad del arte de pesca a partir de una distribución normal, a diferentes edades de primera captura. ....   | 76 |
| Tabla XVIII. Diversidad genética para loci microsatélites en especies de la familia Sciaenidae. Valores promedio para todos los loci en todas las poblaciones. Número de loci (#Loci), número de alelos ( $k$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ). ....   | 78 |
| Tabla XIX. Tamaños efectivos poblacionales estimados para peces de importancia comercial con loci microsatélites. Número de loci utilizados (No. Loci), Tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) e intervalo de confianza (CI). ....   | 87 |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|                    |   |
|--------------------|---|
| $K$                | Número de grupos genéticos (poblaciones)  |
| $\omega$           | Número de alelos  |
| $\omega_e$         | Número efectivo de alelos   |
| $R$                | Riqueza alélica   |
| $H_o$              | Heterocigosidad observada   |
| $H_e$              | Heterocigosidad esperada  |
| $uH_e$             | Heterocigosidad esperada insesgada  |
| $F_{is}$           | Índice de fijación  |
| $H-W$              | Equilibrio de Hardy-Weinberg  |
| $BF$               | Factor Bayes  |
| $(N_0/N_1 \leq 1)$ | Probabilidad posterior en favor de la disminución poblacional                                   |
| $(N_0/N_1 \geq 1)$ | Probabilidad posterior en favor de expansión poblacional  |
| $N_e$              | Tamaño efectivo poblacional   |
| $\mu$              | Tasa de mutación de los loci microsatélites   |
| $H_e$              | Heterocigosidad esperada.   |
| $P$                | Probabilidad  |
| $x_i$              | Número de veces que un evento de tipo $i$ ocurre en $n$ muestras                                |
| $p$                | Probabilidad separada de cada uno de los eventos tipo $k$ posibles                              |
| $PL_T$             | Proporciones relativas esperadas para cada categoría de longitud                                |
| $\mu_T$            | Media de la longitud total  |
| $\sigma_T$         | Desviación estándar de la longitud total  |
| $L'_i$             | Frecuencia observada de la clase de longitud $i$ , de la distribución normal combinada.         |
| $PT$               | Peso total (gr)   |
| $LT$               | Longitud total (mm)   |
| $a$                | Intercepto de la función  |
| $b$                | Pendiente de la función   |
| $LP$               | Longitud patrón (mm)  |
| $FA(\%)$           | Frecuencia acumulada de individuos maduros  |
| $L_{mat50\%}$      | Talla de primera madurez (mm)   |
| $fec$              | Fecundidad parcial por kilogramo  |
| $V_n$              | Selectividad  |
| $\alpha$           | Parámetro de ajuste en la función de selectividad de la distribución gamma                      |
| $\beta$            | Parámetro de ajuste en la función de selectividad de la distribución gamma                      |
| $l$                | Longitud de la marca de clase   |
| $\theta$           | Media de la distribución en la función de selectividad de la distribución normal                |
| $\sigma$           | Desviación estándar, de la distribución en la función de selectividad de la distribución normal |
| $\delta$           | Parámetro de ajuste en la función de selectividad de la distribución log-normal                 |
| $s$                | Parámetro de ajuste en la función de selectividad de la distribución log-normal                 |
| $Z$                | Mortalidad total  |
| $LnC(t+\Delta t)$  | Logaritmo de la captura al tiempo en el intervalo de tiempo (1 año)                             |
| $g$                | Constante   |
| $t$                | Grupo de edad de la captura   |

|              |  |
|--------------|--|
| $M$          | Mortalidad natural   |
| $k$          | Constante de la tasa de crecimiento del modelo de crecimiento de Von Bertalanffy |
| $L_{\infty}$ | Longitud asintótica del modelo de crecimiento de Von Bertalanffy                 |
| $t_0$        | Edad a la longitud cero del modelo de crecimiento de Von Bertalanffy             |
| $T_{m50\%}$  | Edad de primera madurez  |
| $T_{max}$    | Edad máxima observada en el stock  |
| $T_c$        | Temperatura en grados centígrados  |
| $A$          | Matriz de Leslie   |
| $N_0$        | Vector de abundancia inicial en una población estructurada por edad              |
| $a_{ij}$     | Elementos que integran la matriz $A$   |
| $f_n$        | Fecundidad a la edad   |
| $S_n$        | Supervivencia a la edad  |
| $F$          | Mortalidad por pesca   |
| $A*N_{t+1}$  | Matriz de proyección   |
| $\lambda$    | Tasa de crecimiento poblacional  |
| $r$          | Tasa intrínseca de crecimiento poblacional                                       |
| $w$          | Eigenvector derecho, representa la estructura estable por edad                   |
| $v$          | Eigenvector izquierdo, representa el valor reproductivo estable por edad         |
| $A^T$        | Matriz transpuesta de la matriz $A$  |
| $E$          | Elasticidad  |
| $E_{ij}$     | Elementos de la matriz $E$   |
| $wt$         | Peso total en kilogramos al tiempo $t$ .   |
| $\Delta F$   | Incrementos de $F$   |
| $p$          | Nivel de significancia estadístico   |

## 1. INTRODUCCIÓN

La dinámica de poblaciones sujetas a explotación pasa por varias etapas durante su explotación: desarrollo, totalmente explotadas, sobre explotadas, colapso y recuperación, esta última depende de la resiliencia de la población a los factores causales del colapso (Hilborn y Walters, 1992). Dentro de estas etapas la menos deseada es el colapso, el cual es definido como un periodo sostenido de capturas muy bajas después de un periodo de altas capturas (Cook, 1984). A pesar de ser una condición no deseada en el manejo de recursos pesqueros, este ha sido un fenómeno común en muchos stocks de peces a nivel mundial (Worm *et al.*, 2009; Costello *et al.*, 2012).

Durante las etapas de una pesquería existen cambios al interior de la población en función de la magnitud de pesca, como lo son reducción de la abundancia y biomasa, cambios en la composición demográfica, hasta posibles impactos en la diversidad genética (Hauser *et al.*, 2002; Hoarau *et al.*, 2005; Enberg *et al.*, 2009; Heino *et al.*, 2013). Por lo tanto, el nivel en que se afectan estas características, se relaciona con la intensidad de la explotación del recurso, siendo la etapa del colapso, donde acentúan en mayor grado todos los potenciales efectos adversos sobre la población. Sin embargo, aún no se tiene un completo conocimiento de las consecuencias del colapso sobre la composición demográfica y genética en poblaciones de peces sujetas a explotación (Hauser *et al.*, 2002; Mullon *et al.*, 2005; Enberg *et al.*, 2009; Therkildsen *et al.*, 2010). Así también, se desconoce si el colapso pesquero puede comprometer la existencia de especies y posteriormente dirigir las hacia la extinción.

Un número importante de stocks pesqueros en el mundo que se encuentran sobreexplotados o colapsados, han sido listados en alguna categoría de amenaza de riesgo de extinción por organismos internacionales (CITES-UNEP, 2011; IUCN, 2013). Este hecho, ha generado un vigoroso debate acerca de que algunas especies de peces comerciales podrían estar bajo alguna categoría de amenaza, debido a que los criterios de designación sobreestiman el riesgo de extinción según la comunidad pesquera (Matsuda *et al.*, 1997; Musick, 1999; Powles *et al.*, 2000; Reynolds *et al.*, 2005). A pesar de esta situación, actualmente no se conoce ninguna extinción de algún pez marino causado por la pesca (Dulvy *et al.*, 2003;

Reynolds *et al.*, 2005). Aunado a lo anterior, existe un gran número de recursos pesqueros en el mundo que no han sido evaluados o presentan escasa información para una completa evaluación (Costello *et al.*, 2012), y por ende complica la aplicación objetiva de los criterios para determinar el nivel de amenaza en esas poblaciones.

La falta de información base para evaluar la posible recuperación de un stock obliga a realizar evaluaciones indirectas de la misma (Lotze *et al.*, 2011). Algunas mediciones indirectas de recuperación en poblaciones marinas es a través de su distribución, abundancia, estructura de tallas, características demográficas y diversidad genética. La recuperación de una stock puede ser considerada como el regreso su estado normal después de una perturbación (*e.g.* colapso). Asimismo, la capacidad de sobreponerse ante una perturbación se conoce como resiliencia. Las poblaciones pueden presentar diferentes niveles de recuperación después de una perturbación i) total recuperación, cuando regresan a su estado inicial antes de la perturbación ii) recuperación parcial, cuando se recuperan parcialmente a un estado alternativo estable pero no al inicial iii) irreversible, el cual es un estado de daño por un periodo prolongado de tiempo (Lotze *et al.*, 2011). Así, se tiene que de manera indirecta se puede contar con señales del nivel de recuperación de una población aún cuando no se cuenta con una línea base histórica de la población.

En este contexto, un aprovechamiento precautorio para el manejo de recursos marinos requiere un mejor entendimiento de la dinámica del colapso (Mullon *et al.*, 2005). Así como de la magnitud de estos colapsos en el recurso mismo, para ello se deben complementar diferentes herramientas que permitan comprender la dinámica presente y pasada de dichos recursos. El reto de la comprensión de la magnitud de éste fenómeno en las características de la población es mayor cuando no se cuenta con suficiente información para su evaluación. Sin embargo, en la actualidad el empleo de herramientas moleculares permite contar con una perspectiva de los efectos a nivel genético en diferentes escalas temporales. Asimismo, los análisis demográficos matriciales han mostrado ser una buena herramienta para la toma de decisiones, sobretodo en los casos con poca información disponible sobre parámetros de la dinámica de poblaciones y con ello es posible identificar los los parámetros demográficos que son más sensibles para la tasa de crecimiento de la población. La falta de conocimiento en los parámetros demográfico poblacionales, provoca

incertidumbre que puede ser usada para evaluar el riesgo asociado a diferentes estados de la naturaleza los cuales hacen referencia a diferentes condiciones demográficas de la población. Estas herramientas permiten obtener una imagen de la dinámica poblacional a corto y largo plazo, así como estimar el peligro de extinción en especies con escasos datos disponibles.

El presente estudio se enfocó en una de las especies emblemáticas del Golfo de California: la totoaba (*Totoaba macdonaldi*, Gilbert, 1891). La totoaba pasó por todas las etapas de una pesquería hasta su colapso poblacional a mediados del siglo pasado, hasta ser catalogada como en peligro crítico de extinción. En la actualidad, se desconocen varios aspectos de su biología, así como su dinámica poblacional presente y pasada. La falta de información contemporánea provoca incertidumbre sobre su actual estado de amenaza como especie en peligro de extinción a más de tres décadas de tal designación. En este sentido, en este trabajo se evaluaron los potenciales efectos en la población después de su colapso poblacional, mediante dos aproximaciones con los métodos de genética y dinámica poblacional, para inferir si la especie presenta algunas de las características de las especies que se dirigen hacia la extinción.

## 2. ANTECEDENTES

A continuación se describen las categorías de amenaza de diferentes organismos internacionales, así como las opiniones encontradas con respecto a los biólogos pesqueros. También se revisan algunas alternativas para la evaluación del estado de las poblaciones en casos con escasas de información.

### 2.1 Categorías de amenaza

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) a través de la Comisión de Supervivencia de Especies (SSC, por sus siglas en inglés) ha establecido una serie de categorías de amenaza para la protección de especies biológicas. Estas son: *en peligro crítico*, *en peligro*, y *vulnerable*, definidas por los niveles de riesgo en el medio silvestre. A su vez, estas categorías se basan en criterios ecológicos y biogeográficos, tales como: A) reducción de la población, B) extensión del rango geográfico, C) poblaciones pequeñas y en disminución, D) poblaciones muy pequeñas en hábitat restringido y E) análisis cuantitativo (IUCN, 2001). La mayoría de los peces tanto marinos como de agua dulce han sido listados en alguna categoría de amenaza mediante el criterio “A” (reducción poblacional). Con este criterio, una especie se encuentra en *peligro crítico* si disminuye un 80% durante 10 años o tres generaciones; *amenazada* si disminuye un 50% en 10 años o tres generaciones; y *vulnerable* si disminuye un 30% en 10 años o tres generaciones. Sin embargo, la IUCN aplica los mismos criterios cuantitativos para todos los organismos a pesar de sus distintas estrategias biológicas o taxonomía, y considera sólo la ventana temporal ajustada a la duración del tiempo generacional, y el tamaño poblacional es medido sólo en función a los individuos maduros (Musick, 1999).

Si bien, los criterios de la IUCN son adecuados para salvaguardar cambios poblacionales rápidos en el corto plazo, sobreestiman el nivel de amenaza para la mayoría de las especies de peces marinos (Matsuda *et al.*, 1997; Musick, 1999). La principal disyuntiva entre la IUCN y biólogos pesqueros surge por el uso del criterio de disminución poblacional, ya que una reducción del 50% de la población en tres años es causa de listado en alguna categoría de amenaza por IUCN. En cambio los científicos pesqueros consideran que disminuciones de esta magnitud son normales para alcanzar el máximo excedente (productividad) del recurso, lo cual no compromete el estado de salud de la población (Reynolds *et al.*, 2005;

Hilborn, 2007). Así, a partir de un mismo criterio biológico, hay visiones encontradas en cuanto a la dimensión del criterio para evaluar el nivel de amenaza de un recurso (Powles *et al.*, 2000; IUCN, 2001; Reynolds *et al.*, 2005).

Ante esta situación la Sociedad Americana de Pesquerías (AFS, por sus siglas en inglés) desarrolló nuevos criterios que toman en cuenta la resiliencia o la capacidad de una población a recuperarse en base a la tasa de crecimiento poblacional, así como los parámetros demográficos poblacionales como la edad de primera madurez, el coeficiente de crecimiento individual ( $k$ ), la fecundidad y su longevidad. Estas características permiten clasificar a los organismos en cuatro escalas de productividad: alta, mediana, baja y muy baja, y cada nivel de productividad está asociado con un valor umbral de disminución poblacional de 99, 95, 85 y 70%, respectivamente. Si la disminución de la población iguala o excede el umbral para la categoría de productividad apropiada se debe listar como *vulnerable*, y un panel de expertos decidirá si asciende el nivel de amenaza a *amenazada* o *en peligro* o asigna una categoría menor (Musick *et al.*, 2000).

En algunas ocasiones no se cuenta con la información suficiente para realizar las evaluaciones del nivel de amenaza. En este sentido el empleo de marcadores moleculares pueden coadyuvar en la evaluación del nivel de amenaza de especies o poblaciones ya que existe una relación directa entre los niveles de diversidad genética y el peligro de extinción (Spielman *et al.*, 2004; Palstra y Ruzzante, 2008).

## **2.2 Marcadores moleculares y conservación**

Para el estudio de la diversidad genética se utilizan marcadores moleculares los cuales pueden definirse como un gen, proteína o fragmento de ADN que permite distinguir entre individuos, poblaciones o especies (Frankham *et al.*, 2004). Dentro de la amplia variedad de marcadores moleculares los microsatélites también conocidos como *SSR* (por sus siglas en inglés, *Simple Sequence Repeats*) o *STR* (por sus siglas en inglés *Short Tandem Repeats*) son repeticiones en tándem de 1 a 6 pares de bases que se encuentran en el genoma nuclear de eucariotas y sus características como lo son: alto polimorfismo, herencia mendeliana, abundantes en el genoma, elevada tasa de mutación ( $10^{-2}$  y  $10^{-6}$ ), parcialmente neutrales y codominancia, los hacen ideales para estudios poblacionales en comparación a otros

marcadores (Jarne y Lagoda, 1996; Schlötterer, 2000; Sunnucks, 2000). Por ello han sido ampliamente utilizados para estimar parámetros de interés ecológico y conservación como lo son tasas de migración, tamaños efectivos poblacionales, cuellos de botella, parentesco, entre otros (Frankham *et al.*, 2004; Selkoe y Toonen, 2006).

El primer paso, para conservar la diversidad genética es la correcta definición de las unidades poblacionales. Una población puede ser definida “como un grupo de individuos de la misma especie que se entrecruzan entre si y que existen juntos en espacio y tiempo” (Waples y Gaggioti, 2006). Las poblaciones de peces marinos se caracterizan por presentar niveles bajos de diferenciación genética, debido principalmente a la falta de barreras geográficas definidas que impidan el flujo genético (Palumbi, 1994; Reiss *et al.*, 2009). La relevancia de identificar las unidades poblacionales, radica en conservar las características biológicamente relevantes de una especie a lo largo de su distribución. Sin embargo, en la mayoría de los casos la determinación de unidades poblacionales no se encuentra directamente relacionada con las unidades de manejo en especies marinas (Reiss *et al.*, 2009).

Prevenir la extinción de las poblaciones es una meta básica en conservación, y el mantener la diversidad genética tenderá a reducir la posibilidad de extinción y así poder establecer medidas de conservación en el largo plazo (Frankham, 1995). Una manera práctica de inferir el nivel de riesgo de extinción de una población es mediante la estimación del tamaño efectivo poblacional. El tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) es el tamaño de una población ideal (Fisher, 1930; Wright, 1930) que presenta la misma tasa de cambio en las frecuencias alélicas o heterocigosidad que la población de estudio (Luikart *et al.*, 2010). Es decir,  $N_e$  sólo representa una fracción de la población censal ( $N$ : número de total de organismos) y explica la cantidad de diversidad genética contenida en la población. Típicamente  $N_e$  es mucho más pequeño que el tamaño censal ( $N$ ), por lo que el cociente entre el tamaño efectivo poblacional y el tamaño censal ( $N_e/N$ ) en poblaciones silvestres es bajo, siendo del orden de  $\approx 0.11$  a  $0.5$  en organismos terrestres (Frankham, 2007) y de  $\approx 0.004$  en peces (Hauser y Carvalho, 2008; Palstra y Ruzzante, 2008). La diferencia entre estos valores, aparentemente se debe a las características biológicas de los peces con curvas de sobrevivencia tipo III (alta fecundidad y alta mortalidad en la etapa juvenil), los cuales

podrían mostrar grandes diferencias entre  $N_e$  y  $N$  (Hedrick, 2005). La baja proporción  $N_e/N$  en peces tiene profundas implicaciones, debido a que, aunque una población presente tamaños poblacionales censales grandes, éstas poblaciones pueden presentar tamaños efectivos poblacionales pequeños ( $N_e < 1000$ ), lo cual puede comprometer el potencial evolutivo de la población por un incremento en la deriva genética, la cual se refiere a la variación al azar de las frecuencias alélicas generación en generación. Uno de los efectos más notorios de la deriva a bajos niveles de  $N_e$ , es un incremento de la tasa de pérdida de diversidad genética, y por lo tanto un incremento de la endogamia, lo que puede poner en riesgo a la población, también pueden acumularse mutaciones deleteras que afectan negativamente la supervivencia de los individuos (Lande, 1995; Franklin y Frankham, 1998; Lynch y Lande, 1998).

Estudios recientes han mostrado que las especies en peligro de extinción en general presentan niveles reducidos de diversidad genética y por ende menores tamaños efectivos poblacionales (Spielman *et al.*, 2004; Palstra y Ruzzante, 2008). Esto ha llevado a pensar que la mayoría de las taxa no se dirigen a la extinción, antes de que los factores genéticos los afecten negativamente (Spielman *et al.*, 2004). Por lo tanto, los niveles de diversidad genética pueden ser usados para inferir el peligro de extinción en especies con escasa información poblacional disponible para ser evaluadas con las metodologías de las agencias que determinan el nivel de amenaza en dichas especies (*e.g.* IUCN). Asimismo, se han desarrollado metodologías para inferir las oscilaciones de  $N_e$  en el pasado (demografía-histórica) con diferentes escalas temporales, lo que permite distinguir entre efectos contemporáneos y de largo plazo afectando la diversidad genética (Cornuet y Luikart, 1996; Luikart *et al.*, 1998; Beaumont, 1999; Garza y Williamson, 2001b; Storz y Beaumont, 2002). Estas metodologías permiten conocer la magnitud del impacto ante severas disminuciones poblacionales y determinar si estas poblaciones aún cuentan con su potencial evolutivo de largo plazo (Frankham y Franklin, 1998; Franklin y Frankham, 1998; Lynch y Lande, 1998; Frankham, 2005, 2007).

Se han documentado impactos de la pesca a nivel de diversidad genética en algunos recursos pesqueros (Smith *et al.*, 1991; Hauser *et al.*, 2002; Hutchinson *et al.*, 2003; Hoarau *et al.*, 2005; Ruggeri *et al.*, 2012), mientras que otros estudios no han encontrado pérdida de

diversidad genética (Ruzzante *et al.*, 2001; Poulsen *et al.*, 2006; Therkildsen *et al.*, 2010; Chapman *et al.*, 2011; Cuveliers *et al.*, 2011). La discrepancia en los resultados de los estudios antes mencionados, implicaría que el colapso pesquero no necesariamente reduce la variabilidad genética en marcadores neutrales. Esto refuerza la importancia de comprender la biología evolutiva de los peces explotados y usar los niveles de diversidad genética como criterios para inferir el riesgo de extinción, y de esta manera asegurar su conservación en el largo plazo.

Por un lado, si existen evidencias de reducciones de diversidad genética que comprometen el potencial evolutivo, se requiere implementar medidas estrictas de manejo para salvaguardar a la población. En cambio, si no se encuentra evidencia de pérdida de diversidad genética y el potencial evolutivo asegura la subsistencia de la población en el largo plazo, se pueden tomar medidas de manejo menos severas (Peter *et al.*, 2010). En este último caso se pueden explorar las características demográficas poblacionales para establecer medidas de corto y mediano plazo enfocadas a los sectores de la población más sensibles ante perturbaciones naturales y antropogénicas.

### **2.3 Demografía poblacional y conservación**

Los modelos tradicionales para evaluar tendencias poblacionales normalmente requieren gran cantidad de información o largas series históricas de abundancia para poder establecer medidas de manejo (Hilborn y Walters, 1992; Haddon, 2001). Se sabe que la pesca puede cambiar las características de la composición demográfica de poblaciones. Entre los cambios que presentan las poblaciones explotadas, se pueden mencionar la reducción de la composición de edades y tallas, cambio en la tasa de crecimiento, tallas de primera madurez, fecundidad, así como reducciones de su área de distribución por extirpaciones locales (Dulvy y Reynolds, 2002; Dulvy *et al.*, 2003; Enberg *et al.*, 2012; Heino *et al.*, 2013). Por lo tanto, el cambio en estos parámetros poblacionales, es evidencia de una fuerte explotación y puede ser usado para inferir el nivel de impacto de la pesca en poblaciones sobreexplotadas, sobre todo para aquellas especies en donde no existe suficiente información histórica necesaria para aplicar los modelos que demandan gran cantidad de información.

Relacionado con lo anterior, se han propuesto evaluaciones alternativas con base en indicadores de sustentabilidad que requieren menor cantidad de información y que hacen uso de la caracterización de la composición de la captura (Froese, 2004; Cope y Punt, 2009), la cual se basa en tres ideas principales: 1) la composición de la captura debe ser representada casi exclusivamente por individuos maduros, 2) la composición de la captura debe consistir principalmente de peces de la talla con la máxima productividad de la cohorte y 3) la composición de la captura debe asegurar la conservación de los individuos de mayor tamaño (Froese, 2004). Estos indicadores se enfocan en capturar organismos posteriores a la talla de máxima productividad para evitar la sobrepesca del crecimiento (Beverton y Holt, 1957) y evitar la captura de organismos antes de su talla de reproducción para evitar sobrepesca del reclutamiento (Ricker, 1954). Éstos indicadores se aplican a recursos donde se cuenta con una pesquería, pero que no existe un seguimiento de la misma. Por lo tanto, la captura indica el cambio en la estructura de tallas que ha sufrido la población debida a la pesca (Froese, 2004; Heino *et al.*, 2013). En el caso de no contar con una pesquería establecida, los indicadores pueden ser usados como el tipo de composición ideal para evitar la sobreexplotación.

Los modelos matriciales han mostrado ser una herramienta útil para evaluar el estado de la población, cuando se cuenta con poca información biológica disponible para establecer medidas de manejo (Crowder *et al.*, 1994; Caswell, 2001; Gerber y Heppell, 2004; Gerber *et al.*, 2004; Rogers-Bennett y Leaf, 2006). Estos métodos se basan en la evaluación de la tasa de crecimiento poblacional  $\lambda$  ( $= e^r$ , donde  $r$  es la tasa per cápita de crecimiento poblacional), (Benton y Grant, 1999; Caswell, 2001). Por lo tanto, se puede inferir si una población es estable ( $\lambda = 1$ ) tiene la capacidad de crecer ( $\lambda > 1$ ) o disminuir ( $\lambda < 1$ ) (Caswell, 2001).

Dentro de los modelos matriciales, los análisis de perturbación evalúan el impacto de los cambios en las tasas vitales (*e. g.* supervivencia y fecundidad) con respecto a una variable de interés (Benton y Grant, 1999). La elasticidad, es una medida de perturbación dentro de los modelos de proyección matricial, que cuantifica el cambio proporcional de la tasa de crecimiento poblacional como una función de un cambio proporcional en una transición demográfica (*e.g.* crecimiento, supervivencia, fecundidad) (de Kroon *et al.*, 2000). Los

análisis de perturbación brindan información acerca de los parámetros demográficos que cuentan con un mayor impacto sobre la tasa de crecimiento poblacional (Benton y Grant, 1999; Heppell *et al.*, 2000; Caswell, 2001). Esto permite enfocar los esfuerzos de conservación hacia las características biológicas más relevantes para la población. Los análisis de perturbación basados en elasticidades, han sido ampliamente utilizados para plantear medidas de manejo en especies prioritarias de conservación (Crowder *et al.*, 1994; Gerber *et al.*, 2004; Rogers-Bennett y Leaf, 2006) y especies comerciales (Diamond *et al.*, 2000; Rogers-Bennett y Leaf, 2006; Quiroz *et al.*, 2011; Foster y Vincent, 2012).

El manejo de recursos marinos representa un gran reto debido a que nunca se tiene la información perfecta para sus evaluaciones (Punt, 2006). Las poblaciones de peces marinos presentan una alta variabilidad en sus parámetros demográficos debida principalmente a la estocasticidad ambiental, lo que dificulta evaluar el estado de las poblaciones (Fogarty *et al.*, 1996). El conocimiento incompleto de los procesos o estados de la naturaleza se conoce como incertidumbre (FAO, 1996). Existen diversas fuentes de incertidumbre (o errores) en la evaluación de recursos naturales, como lo son: la incertidumbre de proceso, de observación, del modelo, de estimación, del comportamiento de los usuarios del recurso, de las condiciones ambientales futuras, de las condiciones económicas, políticas y sociales futuras, y sobre los objetivos futuros de ordenación (Hilborn y Peterman, 1996; Francis y Shotton, 1997); dichas fuentes de incertidumbre generan un riesgo asociado con las evaluaciones (Francis y Shotton, 1997). El riesgo puede ser considerado como la probabilidad de que un evento no deseado ocurra (FAO, 1996). En este sentido, uno de los aspectos del manejo precautorio, es el uso de puntos de referencia, los cuales deben tomar en cuenta la incertidumbre y el riesgo de las diferentes medidas de manejo (Caddy y Mahon, 1995; FAO, 1996). En el sentido del manejo precautorio, la prioridad es conservar la capacidad productiva del recurso, dada la incertidumbre del impacto de la pesca en el recurso (Hilborn *et al.*, 2001). La implementación de este tipo de aprovechamiento en las evaluaciones de recursos marinos explotados o con problemas de conservación, coadyuva a realizar mejores recomendaciones para su uso y manejo, ya que consideran la variabilidad y errores asociados en el proceso de evaluación (Fogarty *et al.*, 1996; Francis y Shotton, 1997; Harwood, 2000; Hilborn *et al.*, 2001).

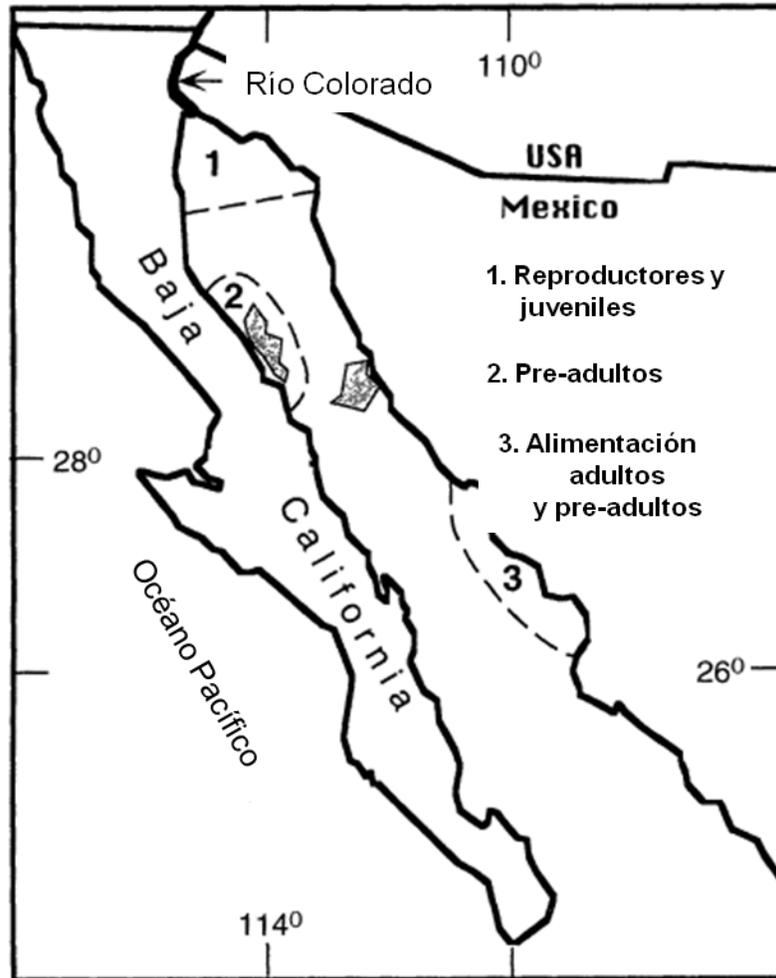
El conocimiento de genética de poblaciones y la dinámica de poblaciones es un requisito fundamental para la conservación de especies, que no cuentan con monitoreos de largo plazo, este conocimiento permite realizar inferencias del nivel de amenaza y potencial evolutivo de la población. También, permiten evaluar el nivel productivo de la población e identificar parámetros poblacionales más sensibles ante perturbaciones. Además, la incorporación de incertidumbre en los parámetros demográficos posibilita evaluar el riesgo de condiciones no deseadas en la población, asumiendo diferentes estados de la naturaleza (hipótesis). La integración de toda esta información puede ser utilizada para recomendar medidas de conservación y manejo en recursos con escasa información biológica disponible.

## **2.4 Estudios sobre *Totoaba macdonaldi***

### **2.4.1 Distribución y patrones de migración**

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*) es la especie más grande de la familia Sciaenidae llegando a medir 2 m y pesar más de 100 kg (Flanagan y Hendrickson, 1976). Se distribuye desde la desembocadura del Río Colorado hasta Bahía Concepción en la costa oeste del Golfo y hasta la boca del Río Fuerte en el este (Jordan y Evermann, 1896) (Figura 1). Los juveniles se alimentan de invertebrados bénticos y los adultos de peces pelágicos menores, principalmente, peces de la familia engraulidae (*Cetengraulis mysticetus*) y secundariamente de la familia atherinopsidae (*Colpichthys* spp.) (Román-Rodríguez, 1990; De Anda Montañez *et al.*, 2013).

La totoaba presenta un patrón de migración en donde los adultos llegan al Alto Golfo de California a desovar (área de desove y crianza) durante el invierno y primavera, permaneciendo varios meses antes de migrar al sur. Los juveniles migran al sur después de permanecer dos años en el Alto Golfo. Los organismos pre-adultos migrantes permanecen por un periodo de tiempo en la costa continental del Golfo de California y posteriormente regresan al Alto Golfo cuando son adultos, para la temporada reproductiva (Flanagan y Hendrickson, 1976; Arvizu y Chávez, 1979; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Cisneros-Mata *et al.*, 1997) (Figura 1). Esto sugiere la existencia de una sola población, con un movimiento filopátrico al área del Alto Golfo de California.



**Figura 1.** Distribución de los diferentes estadios de totoaba en el Golfo de California. (1) Adultos (7-25 años) desovan cerca del Río Colorado; (1) los juveniles permanecen durante los primeros dos años en la misma zona; (2) los juveniles y pre-adultos (3-6 años) se concentran al sur de la zona de desove y crianza; (3) en el invierno los pre-adultos y adultos migran a la zona más sureña por la parte continental. Modificado de Cisneros-Mata et al., (1997).

#### 2.4.2 Pesquería

La pesquería de totoaba se estableció probablemente antes de la década de los años 20's, incentivada principalmente por la comercialización de la vejiga gaseosa (buche) hacia el mercado oriental, así como a San Francisco, California, E.U. (Craig, 1926; Chute, 1928; Flanagan y Hendrickson, 1976). Las capturas presentaron un máximo histórico en 1942 con

2261 toneladas (t), las cuales disminuyeron a 280 t en 1958 y hasta un mínimo de 59 t en 1975 (Rosales-Juárez y Ramírez-González, 1987).

La pesquería comercial de totoaba fue principalmente ejercida durante los desplazamientos y migraciones de los reproductores al Alto Golfo, lo que producía una alta densidad de peces en un área limitada. La pesca de totoaba se llevaba con redes y anzuelos. La principal arte de pesca de utilizaban los pescadores comerciales eran redes agalleras de 10'' de luz de malla, de 100 a 200 brazadas de longitud y cuatro brazadas de altura, las cuales se dejaban trabajando durante toda la noche en sitios donde los pescadores tenían conocimiento del paso de totoaba (Arvizu y Chávez, 1972). En el día, los pescadores solían buscar los cardúmenes visualmente en la superficie o buscando cardúmenes de sardina (comederos), los cuales son detectados por una alta presencia de aves (Arvizu y Chávez, 1972). Al detectar el cardumen, la misma red podía ser utilizada como red de cerco encerrando al cardumen de totoaba, cabe mencionar que los pescadores también utilizaban dinamita para que los peces se enmallaran más rápido. Sin embargo, la dinamita también era utilizada para matar totoabas cuando había cardúmenes superficiales (Arvizu y Chávez, 1972). Los anzuelos eran utilizados principalmente por los pescadores deportivos quienes utilizaban como carnada: sardina (*Sardinops sagax*), chano (*Micropogonias spp.*), curvina (*Cynoscion spp.*) o macarela (*Scomber japonicus*).

### **2.4.3 Normatividad**

Debido al creciente interés en la captura de totoaba, durante los años de 1940 a 1955 se impusieron varias medidas administrativas que consistieron en vedas para proteger la época reproductiva. La boca del Río Colorado fue declarada como área protegida en 1955. Posteriormente fue declarada como zona de reserva para todas las especies del área en 1974 (Rosales-Juárez y Ramírez-González, 1987), y en 1975 el gobierno mexicano declaró una veda permanente ante la disminución tan dramática en las capturas (Flanagan y Hendrickson, 1976). En 1976 fue listada por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (por sus siglas en inglés: CITES) en su apéndice I catalogada como en peligro de extinción. En 1979 el Servicio

Nacional de Pesquerías Marinas de los Estados Unidos la incorporó a la lista de especies amenazadas bajo el registro federal 44(99): 29478-29480 (Barrera-Guevara, 1990). Actualmente se encuentra catalogada como “en peligro crítico” en la lista roja de la IUCN (ver 3.1, 2000; bajo los criterios de la versión 2.4) (IUCN, 2013).

#### **2.4.4 Hipótesis de disminución poblacional**

Se han planteado tres posibles hipótesis de la disminución del stock y han sido examinadas por Flanagan y Hendrickson (1987): sobrepesca, degradación de hábitat de desove y pérdida de hábitat de crianza causado por el cesamiento del flujo del Río Colorado inducido por la construcción de las presas Hoover y Glenn Canyon en 1935 y 1963, respectivamente. Los autores concluyeron que la causa más probable del colapso de la totoaba hasta 1958 fue la sobrepesca del reclutamiento. Aunado a esto, también sugirieron una relación entre las descargas del Río Colorado y la falla en el reclutamiento debida a la pérdida de áreas de desove y secundariamente una pérdida del área de crianza (Flanagan y Hendrickson, 1976). Cisneros-Mata *et al.*, (1995) y Pedrín-Osuna *et al.*, (2001), sugieren que la pesca furtiva así como la pesca incidental de juveniles por la pesca de camarón a inicios de los 60's también pudo haber contribuido a la baja abundancia de totoaba. Para finales de la década de los 80's se estimó que al menos 120,000 juveniles de totoaba morían anualmente por la pesca de arrastre de camarón (Barrera-Guevara, 1990; Cisneros-Mata *et al.*, 1995).

La realidad actual de la totoaba es muy compleja, fue catalogada como especie en peligro crítico de extinción desde hace más de tres décadas, sin embargo, los criterios para la designación del nivel de amenaza fueron creados a finales de los 90's (Musick, 1999; IUCN, 2001). La falta de monitoreos a lo largo de ese periodo de tiempo, provoca que no se cuente con la información necesaria para conocer el estado de salud actual de la población, y por lo tanto, que los criterios para asignar un estado de amenaza no puedan ser aplicados objetivamente. Ante esto, es necesario comprender el estado actual de *Tototaba macdonaldi* mediante la evaluación de su dinámica poblacional actual y pasada mediante métodos de dos disciplinas cinéticas, la genética de poblaciones y la dinámica de poblaciones.

### 3. JUSTIFICACIÓN

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*), es un pez endémico del Golfo de California enlistado como en peligro crítico de extinción debido a diversos efectos tanto antropogénicos como naturales (Flanagan y Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Lercari y Chavez, 2007). La fuerte disminución en las capturas provocó que el gobierno mexicano declarara una veda permanente vigente desde 1975 hasta la actualidad, debida a la severa disminución en las capturas (Flanagan y Hendrickson, 1976). Posteriormente fue catalogada como especie en peligro de extinción por varios organismos internacionales (CITES Apéndice I, 1976; NMFS, 1979 registro federal 44(99): 29478-29480) (Barrera-Guevara, 1990). Actualmente se encuentra catalogada como “en peligro crítico” en la lista roja de la IUCN (ver 3.1; bajo los criterios de la versión 2.4) (IUCN, 2001).

En la actualidad existe una fuerte presión social por parte de pescadores del Alto Golfo de California (AGC) para abrir de nuevo la pesquería a este sector, sin embargo, no se cuentan con datos para la toma de decisiones por el casi total desconocimiento del estado actual del recurso. La necesidad de reevaluar la condición actual de la totoaba surge por:

- 1) Debido a la veda permanente desde 1975 no se ha realizado prospecciones para conocer el estado actual de la(s) población(es).
- 2) Se desconoce si esta especie está constituida como una unidad poblacional (panmixia), y si la disminución en la población pudo crear un cuello de botella teniendo consigo una reducción en la variabilidad genética.
- 3) Se desconoce el tamaño efectivo poblacional el cual es un indicador del potencial evolutivo y peligro de extinción de la especie.
- 4) No se ha documentado la distribución y abundancia actual en el rango de su distribución.
- 5) La falta de información de los aspectos demográficos básicos provoca una alta incertidumbre para establecer la productividad de la población y si esta puede soportar niveles de mortalidad por pesca.
- 6) Lo anterior provoca que no se le hayan aplicado los nuevos criterios de evaluación tanto de la IUCN (2001) como de la AFS (Musick, 1999).
- 7) Existe una demanda social para el aprovechamiento del recurso.

#### **4. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la dinámica genética y demográfica de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) en el Golfo de California.

##### **4.1 Objetivos particulares**

- Identificar las unidades poblacionales de totoaba en el Golfo de California en espacio y tiempo.
- Determinar si hubo pérdida de diversidad genética asociada al colapso poblacional mediante un análisis de demografía–histórica.
- Establecer si totoaba conserva su potencial evolutivo ( $N_e$ ) en base al tamaño efectivo poblacional.
- Evaluar los parámetros demográficos poblacionales.
- Estimar la tasa de crecimiento poblacional como indicador de la productividad de la población(es).
- Inferir los impactos en la tasa de crecimiento poblacional bajo diferentes escenarios de mortalidad pesca y edades de primera captura.
- Evaluar el riesgo de sobrepasar los puntos de referencia límite y objetivo en base a la tasa de crecimiento poblacional ante diferentes escenarios de explotación.

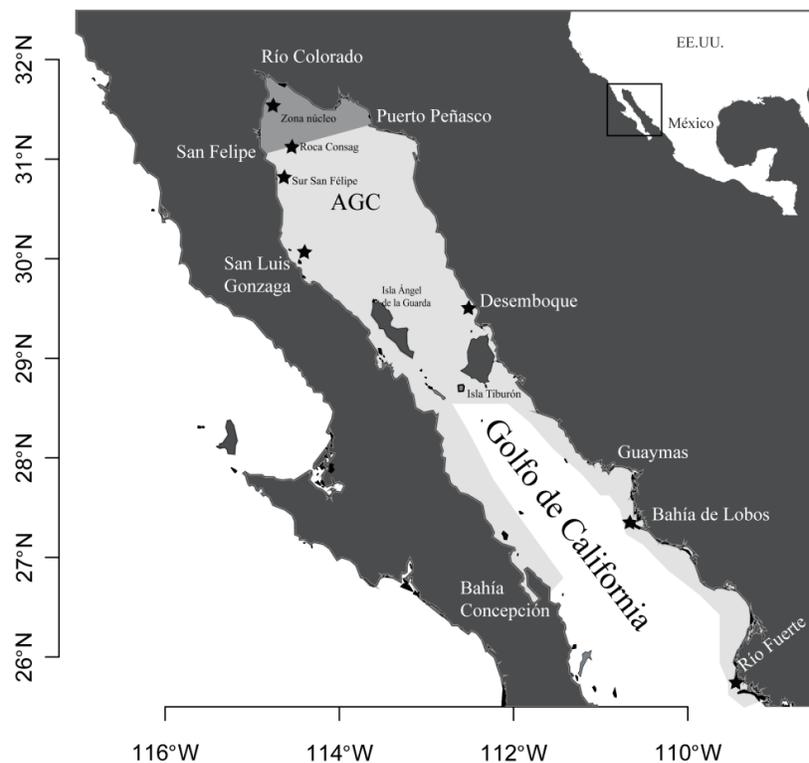
## 5. HIPÓTESIS

Si, la especie *Totoaba macdonaldi* se encuentra en peligro de extinción, entonces, debería presentar características de una especie que ha sido fuertemente diezmada en función de la magnitud de la disminución poblacional como lo es: reducción de la variabilidad genética, cuello de botella, contracción del rango de distribución, reducción en la estructura de tallas y/o edad truncada, bajas tasas de crecimiento poblacional.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Trabajo de campo

Se realizaron trece campañas de muestreos en el Golfo de California entre los años 2010 y 2013. Los sitios de recolecta fueron: Zona Núcleo, Roca Consag, Sur de San Felipe, San Luis Gonzaga, Desemboque y Bahía de Lobos. Además, se contaron con muestras de organismos capturados en el área de San Luis Gonzaga en el año 2005 (Figura 2). Los muestreos se realizaron a bordo de embarcaciones de pesca deportiva y pesca artesanal mediante el uso de cañas y una red con luz de malla 10" con una longitud aproximada de 150 m. También se obtuvieron organismos provenientes de la pesca incidental de camarón en el Alto Golfo. Se ubicó el sitio de captura de cada organismo y se les registraron los datos de longitud total, peso, sexo (cuando este pudo ser establecido) y se les tomó una biopsia de aleta ( $\approx 1 \text{ cm}^2$ ), la cual fue preservada en alcohol al 96%.



**Figura 2.** Área de estudio en el Golfo de California. Distribución histórica reportada para totoaba (gris claro). Reserva de Alto Golfo y delta de Río Colorado (gris oscuro). Las estrellas indican los sitios de recolecta: Zona núcleo (n = 170), Roca Consag (n = 65), Sur de San Felipe (n = 15), San Luis Gonzaga 2010 (n = 85), Desemboque (n = 6), Bahía de Lobos (n = 21), Río Fuerte (n = 1).

## 6.2 Trabajo de laboratorio

### 6.2.1 Extracción y visualización de ADN

La extracción se realizó mediante un método convencional (Sambrook y Russell, 2001), la calidad del ADN se visualizó en geles de agarosa al 1%, y posteriormente se cuantificó en un biofotómetro (Eppendorf AG).

### 6.2.2 Amplificación de microsatélites

Se amplificaron 14 loci microsatélites específicos para totoaba (García-de-León *et al.*, 2010). A su vez, para aumentar el número de loci se probaron 26 loci microsatélites diseñados para *Cynoscion ocellatus* (O'Malley *et al.*, 2003), de los cuales sólo se seleccionaron 5 por presentar polimorfismo (*Soc 423*, *Soc 428*, *Soc 430*, *Soc 442*, *Soc 443*) (Tabla I), para finalmente contar con una batería de 19 loci microsatélites.

Todos los loci microsatélites fueron marcados con un tipo fluorescencia (TET, FAM, HEX). Se realizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con las siguientes concentraciones de reactivos: buffer 1X, cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ) 2mM, dNTP's 0.03 mM, iniciadores 0.4 pMol y 0.03 U/  $\mu$ l de Taq polimerasa. Las condiciones de PCR son descritas en García de León *et al.* (2010), éstas se llevaron a cabo en un termociclador de gradiente (Biorad) y consistió en desnaturalización por 5 minutos a 94 °C, y posteriormente con 32 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 30 segundos a la temperatura de alineamiento según el loci (Tabla I), 72 °C por 30 segundos de extensión y 4 minutos a 72 °C de extensión final.

A partir de los productos de PCR se tomó 1  $\mu$ l de producto que fue después mezclado con 2  $\mu$ l de formamida y 0.5  $\mu$ l de estándar de talla etiquetado con TAMRA. La mezcla fue cargada en un gel de acrilamida al 6% y se realizó una electroforesis en un secuenciador automático ABI 377 (Applied Biosystems). Las tallas alélicas fueron estimadas con el software Genotyper (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Las lecturas de las tallas alélicas (scores) se realizaron por dos personas de manera independiente y las inconsistencias de las lecturas fueron resueltas por una tercera persona. Los análisis de genotipificación se llevaron a cabo en el laboratorio de ecología molecular de Southwest Fisheries Science Center, NOAA en Santa Cruz, California, E.U.

**Tabla I.** Microsatélites utilizados en el presente estudio, incluye número de acceso al GeneBank, motivo repetido, secuencia flanqueante, tamaño esperado y temperatura de alineamiento (Ta). Diseñados para *Totoaba macdonaldi*, (García-de-León *et al.*, 2010) y amplificación cruzada de *Cynoscion ocellatus* (O'Malley *et al.*, 2003).

| Locus          | GenBank  | Motivo repetido    | Secuencia de los iniciadores (5>3')                         | Tm | Rango   |
|----------------|----------|--------------------|---|----|---------|
| <i>Tmac03</i>  | HM130045 | (CA)9              | F: GAGTTTGAGGACTGAATCACTA<br>R: ATGGCTACCAAGTAGGAAGA        | 60 | 158–162 |
| <i>Tmac04</i>  | HM130046 | (CA)15             | F: CTGTGTTGGCTTCTGTCA<br>R: ACTGAGCGGAAATGAAAA              | 56 | 168–184 |
| <i>Tmac05</i>  | HM130047 | (GA)14             | F: ATTTCTCTGCTGGTGGTG<br>R: TCCATGCTGTAGAAATATGG            | 60 | 150–156 |
| <i>Tmac06a</i> | HM130048 | (GT)17             | F: ATTAAAGAAGAGTGCAGGAAC<br>R: TGTGTCTTTTGATGTGTTTGT        | 59 | 144–180 |
| <i>Tmac07a</i> | HM130048 | (GT)8GC(GT)8       | F: AAGAATTGAAAAAGTGCTGAG<br>R: AGAGAGGCTGTCTTGAATGA         | 59 | 146–152 |
| <i>Tmac08</i>  | HM130049 | (GT)10GC(GT)5      | F: GTAAGCTGCCTTCATCGTA<br>R: CCTCAAACAATGTTCAAAAA           | 60 | 162–174 |
| <i>Tmac10</i>  | HM130050 | (CA)2A(CA)14       | F: CACACGGAGAAAGAAACGAT<br>R: GGTTGTTGTGAAATCAAATG          | 59 | 200–214 |
| <i>Tmac25</i>  | HM134218 | (GT)22             | F: CACCAGTAATTTATGGTTAGAACA<br>R: GGGACTGCTGTTTCTGAT        | 54 | 142–176 |
| <i>Tmac43</i>  | EU784692 | (TG)5CG(TG)9       | F: GTAGCAGCATGTGTGCCTGT<br>R: GGAGGAGTATTGACGTGAGACC        | 58 | 156–168 |
| <i>Tmac44</i>  | EU784693 | (CA)16             | F: ACAGAATGAGGGCAGAGG<br>R: GCCACAAAGACACAATGCAG            | 58 | 196–216 |
| <i>Tmac51</i>  | EU784694 | (TG)A(TG)12TT(TG)  | F: GTTTTGCCTCTGCACACCTC<br>R: TTCTGCCAAGATGACAGCAC          | 60 | 124–162 |
| <i>Tmac55</i>  | EU784695 | (GAT)2(GT)12       | F: TGCAAAGCAGAAGAGAGGTG<br>R: TGAGCCCGTTTTGATGATCT          | 60 | 166–186 |
| <i>Tmac56</i>  | EU784696 | CA(C)6(A)5(CA)12GA | F: CCTCCACCTCCACCTTTAT<br>R: GCGTGTTCGCTCTTTGTAAC           | 58 | 192–212 |
| <i>Tmac74</i>  | HM134219 | (AG)18GG(AG)17     | F: ATCGATTTTCATCAACAGGT<br>R: GTCTTTCTCTCTGCGTTTCT          | 58 | 116–168 |
| <i>Soc 423</i> |          | [CA]26             | F: GTCACCGCACCATGATGGAGAT<br>R: TACCACTTACACTCAGCAGGTG      | 56 | 180–200 |
| <i>Soc 428</i> |          | [TG]38             | F: GACATCGCATTTGTCTACAGAGTCG<br>R: AACTCCCAGTCATAATATCCCTTT | 56 | 150–170 |

Tabla I. continuación...

|                |        |  |            |
|----------------|--------|--|------------|
| <i>Soc 430</i> | [TG]23 | F: TAACAGTCCCTAAACAGGTT<br>R: GTTTCTCCTCCCCTTTCCTC       | 54 240-260 |
| <i>Soc 442</i> | [TG]36 | F: CTA CTTCTAGTCTTTGCTCCACT<br>R: GTCAAACGCTATTTTTTCCAGT | 54 120-160 |
| <i>Soc 443</i> | [TG]15 | F: CACAGGAGGAGTTTGTCCAAT<br>R: ATGTTTCGGTTTTTCGTTTGCTC   | 54 190-210 |

---

## 6.3 Análisis de datos

### 6.3.1 Análisis de datos genéticos

#### 6.3.1.1 Calidad de los marcadores genéticos

##### 6.3.1.1.1 Presencia de alelos nulos

Se llevó a cabo un análisis para detectar la posible presencia de alelos nulos. Un alelo nulo es un alelo que no es amplificado aun cuando está presente produciendo un falso homocigoto, lo cual puede causar desviaciones de las frecuencias alélicas verdaderas de la población (Chapuis y Estoup, 2007; Carlsson, 2008). Se determinó la proporción de alelos nulos con el algoritmo de máxima expectación de Dempster *et al.* (1977) implementado en el programa FREENA (Chapuis y Estoup, 2007). La proporción de alelos nulos se puede catalogar como ilegible ( $<0.05$ ), moderada ( $0.05-0.20$ ) o una gran proporción ( $>0.20$ ). (Chapuis y Estoup, 2007).

##### 6.3.1.1.2 Desequilibrio de ligamiento

Para evaluar la segregación independiente de los loci se realizó una la prueba de desequilibrio de ligamiento implementada en GENEPOP 1.3 (Raymond y Rousset, 1995). La hipótesis nula indica que cada locus (producto amplificado con un par de iniciadores) se segrega de manera independiente. Para ello se utilizaron las siguientes condiciones 10,000 demorizaciones, 5,000 batches y 10,000 iteraciones por batch. El nivel de significancia fue ajustado con base a la corrección secuencial de Bonferroni (Rice, 1989).

### 6.3.1.2 Diversidad genética

Se estimaron los niveles de diversidad genética por locus y por sitio de muestreo (Figura 2). Se estimó el número de alelos por locus ( $k$ ), alelos efectivos ( $k_e$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y la heterocigosidad esperada insesgada ( $uH_e$ ) con el programa GENEALEX 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). También se llevó a cabo la estimación de la riqueza alélica ( $R$ ), que es el número de alelos estimados por rarefacción, asumiendo que toda la muestra fuera igual al tamaño de muestra menor. Esto se realizó con el programa FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 2001).

Para evaluar si los loci se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg se realizó la prueba exacta de Fisher implementada a partir del coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) en GENEPOP 1.2 (Raymond y Rousset, 1995). El análisis se realizó mediante 10,000 demorizaciones, 5,000 batches y 1,000 iteraciones por batch. El nivel de significancia fue ajustado en base a la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples (Rice, 1989).

### 6.3.1.3 Análisis de estructura poblacional

Para alcanzar el primer objetivo de determinar las unidades poblacionales de totoaba, se llevó a cabo un análisis de estructura poblacional. El número de muestra de los organismos genotificados fue menor al total de organismos mostrados en la Figura 2. Los datos fueron analizados de dos formas; una mediante un análisis espacial por sitio de muestreo y otra mediante el análisis de cohortes, el cual representaría un análisis temporal. Este último análisis se realizó para verificar la estabilidad temporal de las frecuencias alélicas, ya que se pueden presentar variaciones del éxito reproductivo (*efecto Hedgecock*) que puede crear estructura poblacional entre diferentes grupos de edad (Hedgecock, 1994; Hedrick, 2005). Para el análisis espacial se consideraron los siguientes datos: Zona núcleo ( $n = 105$ ), Roca Consag ( $n = 64$ ), Sur de San Felipe ( $n = 11$ ), San Luis Gonzaga ( $n = 102$ ), Desemboque ( $n = 3$ ) Bahía de Lobos ( $n = 28$ ) (Figura 2). Para el análisis de cohortes se determinó la edad relativa con base a la longitud total, utilizando la función inversa de crecimiento de Von Bertalanffy (De Anda Montañez *et al.*, 2013). Una vez que se determinó la edad relativa, los organismos fueron asignados al posible año en que nacieron (cohorte). El análisis de datos consistió de siete cohortes: 2003 ( $n=22$ ), 2004 ( $n=31$ ), 2005 ( $n=41$ ), 2006 ( $n=48$ ),

2007 (n=27), 2008 (n=43) y 2009 (n=32). Para la estimación de estructura espacial y temporal se usaron las siguientes aproximaciones.

#### **6.3.1.3.1 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)**

Para evaluar el cómo se encuentra distribuida la diversidad genética dentro y entre los grupos descritos anteriormente. Se llevó a cabo un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) implementado en el programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). Este método estima el grado de diferenciación genética a diferentes niveles de organización, entre individuos, poblaciones o grupos de poblaciones (Excoffier *et al.*, 1992). También, estima el porcentaje de la varianza genética que explica cada nivel de organización. Con base a este análisis se evaluó el porcentaje de la varianza y si existen niveles significativos de diferenciación en términos espacio (localidades) y tiempo (cohortes).

Posteriormente, se procedió a analizar el grado de diferenciación al interior cada componente: componente espacial (entre localidades) y el componente temporal (entre las cohortes). Los análisis se describen a continuación.

#### **6.3.1.3.2 Distancias genéticas**

Para evaluar las relaciones genéticas entre los sitios de muestreo así como entre las cohortes se utilizó la distancia de la cuerda ( $D_c$ ), la cual asume que las diferencias entre las poblaciones surgen únicamente por efecto de la deriva (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967). Se construyó un árbol de distancias genéticas no enraizado mediante el método de Neighbor-Joining con 10,000 pseudoreplicas bootstrap utilizando el programa PHYLIP 3.69 (Felsenstein, 1993). Finalmente, la visualización y edición del árbol consenso se llevó a cabo en TREEVIEW 1.6.6 (Page, 1996).

#### **6.3.1.3.3 Índice de fijación de Wright ( $F_{st}$ )**

También, se realizó un análisis con el índice de fijación  $F_{st}$  de Wright que mide la magnitud de la diferenciación genética entre poblaciones a partir de las frecuencias alélicas. De manera general, la interpretación de los valores de  $F_{st}$  iguales a cero significan homogeneidad genética, mientras que valores significativamente mayores de cero indican

diferenciación genética poblacional. La estimación de este parámetro se realizó siguiendo a Weir y Cockerham (1984), el nivel de significancia se calculó mediante 10,000 réplicas con GENETIX 4.05 (Belkhir *et al.*, 1996-2004).

#### **6.3.1.3.4 Inferencia Bayesiana**

Para determinar el número de grupos genéticos más probables ( $K$ ) asumiendo equilibrio de Hardy–Weinberg y desequilibrio de ligamiento, se utilizó un método Bayesiano implementado en STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000; Pritchard *et al.*, 2002; Falush *et al.*, 2007). El modelo usa un algoritmo basado en Cadenas Montecarlo de Markov para agrupar a los individuos con base a sus frecuencias alélicas de datos multilocus. Se empleó un modelo asumiendo mezcla y frecuencias alélicas correlacionadas, las cadenas consistieron en un periodo de calentamiento de 100,000 pasos y una extensión de la cadena de 1,000,000 de pasos. Este proceso se repitió 10 veces para cada valor de  $K$ , que fue de 1 uno a ocho. A partir de estos resultados, se estimó la  $K$  más probable en base al valor promedio del logaritmo de la verosimilitud de  $K$  ( $K$  [LnP( $K$ )]) para cada  $K$  inferida por STRUCTURE. También, se estimó el número de grupos más probable de  $K$  en base al cambio de la tasa de la verosimilitud de ( $\Delta K$ ) (Evanno *et al.*, 2005). La estimación se llevó a cabo con el servicio en línea Structure Harvester (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>)(Earl y vonHoldt, 2012).

Una vez realizada la determinación de las unidades poblacionales con base a los análisis de estructura poblacional anteriormente descritos, se procedió a evaluar el siguiente objetivo del trabajo que aborda la problemática de cuello de botella de totoaba.

#### **6.3.1.4 Evaluación de demografía–histórica**

Para evaluar el segundo objetivo del trabajo y determinar la posible pérdida de diversidad genética debida a su colapso poblacional, se llevaron a cabo diferentes aproximaciones para evaluar recientes reducciones en  $N_e$  (*e.g.* cuello de botella). Este análisis se llevó a cabo en dos escalas temporales, una reciente (decenas de generaciones) y otra de larga escala (miles de generaciones).

#### 6.3.1.4.1 Demografía–histórica reciente

Para evaluar la hipótesis de reducción de diversidad genética contemporánea debida a efectos antropogénicos de corto plazo. Se utilizó la prueba de exceso de heterocigosidad, la cual asume que las poblaciones que han experimentado recientes reducciones en  $N_e$ , exhiben una reducción más rápida de la diversidad alélica que la heterocigosidad esperada bajo el equilibrio de  $H-W$  ( $H_e$ ), y por lo tanto, se detecta un exceso de heterocigosidad ( $H_e$ ) con respecto a la heterocigosidad esperada bajo el equilibrio de mutación-deriva ( $H_{eq}$ ). Esta última es estimada a partir del número de alelos en loci polimórficos, y por ende, presentan un exceso de heterocigosidad (Cornuet y Luikart, 1996). Éste análisis se realizó mediante el Modelo de Mutación de dos Fases (TPM por sus siglas en inglés) y asumiendo diferentes proporciones de mutaciones de un solo paso (95%, 90% y 85%) (SMM por sus siglas en inglés). El nivel de significancia se evaluó mediante la prueba de Wilcoxon implementada en BOTTLENECK 1.2.02 (Piry *et al.*, 1999). También se utilizó la distribución de las frecuencias alélicas con el método *mode-shift* (Luikart *et al.*, 1998). Este método examina la forma de la distribución de las frecuencias alélicas y asume que las poblaciones que han sido afectadas por un cuello de botella pueden ser diferenciadas de las poblaciones estables por su forma de distribución. Las poblaciones estables y que se encuentran en equilibrio mutación-deriva, se espera que presenten una forma *L-shape*, mientras que las poblaciones que han pasado por un cuello de botella presentan una forma *mode-shift*, debido a la mayor pérdida de alelos de baja frecuencia. La señal de cuello de botella para estos métodos es detectable por cortos periodos de tiempo. En el caso del método de exceso de heterocigosidad de dos a cuatro generaciones  $N_e$  y para el método *mode-shift* de algunas docenas de generaciones (Cornuet y Luikart, 1996).

La ocurrencia de una reducción severa en  $N_e$  o cuello de botella también se evaluó mediante la tasa  $M$ . Este estimador considera que las distribuciones de frecuencias alélicas contienen información de diversidad cuantitativa, relacionando la frecuencia de los alelos y el número total de alelos  $k$ , con el rango de tamaños de los alelos en un locus ( $r$ ). Cuando una población es reducida en tamaño, aumenta la deriva genética y algunos alelos eventualmente se pierden. Sin embargo, la pérdida de los alelos de mayor y menor talla contribuirían a una reducción en  $r$ , se espera que  $k$  disminuya más rápidamente que  $r$ , por lo

tanto se espera que la tasa  $M = k/r$  sea más pequeña en poblaciones recientemente reducidas que en poblaciones en equilibrio (Garza y Williamson, 2001a). El cálculo de  $M$  se llevó a cabo con el ajuste realizado por Excoffier *et al.* (2005a) e implementado en ARLEQUIN (Excoffier *et al.*, 2005b).

#### 6.3.1.4.2 Demografía–histórica de largo plazo

Para evaluar la hipótesis de pérdida de diversidad genética en el largo plazo debido a causas naturales, se utilizó el método descrito por Beaumont (1999) e implementado en el programa MsVar 1.3 (Beaumont, 1999; Storz y Beaumont, 2002). El método se basa en la historia genealógica de loci microsatélites, para estimar la tasa de expansión o contracción poblacional. El programa utiliza Cadenas Monte Carlo de Markov para realizar simulaciones de la historia de mutación-coalescencia (Beaumont, 1999; Storz y Beaumont, 2002). Este modelo estima la probabilidad posterior de cuatro parámetros:  $N_0$  (tamaño efectivo actual),  $N_1$  (tamaño efectivo ancestral),  $\mu$  (tasa mutacional promedio para todos los loci) y  $T_a$  (tiempo en años cuando ocurrió el cambio en la población). Se corrieron tres cadenas de manera independiente con diferentes valores de inicio (*a priori*) para la media ( $M$ ) y desviación estándar ( $V$ ) de  $N_0$  y  $N_1$  (valores  $\log_{10}$  *a priori*: corrida 1:  $MVN_0 = 2, 1$ ,  $MVN_1 = 4, 2$ ; corrida 2:  $MVN_0 = 4, 2$ ,  $MVN_1 = 4, 2$ ; corrida 3:  $MVN_0 = 4, 2$ ,  $MVN_1 = 2, 1$ ) con la finalidad de evaluar la convergencia entre las estimaciones. Los valores  $\log_{10}$  *a priori* para el tiempo de la disminución poblacional ( $MVT_a = 5, 2$ ) y la tasa mutacional ( $MV\mu = -3.5, 1$ ) fue el mismo para todas las corridas. La tasa mutacional se basó en tasas mutacionales publicadas previamente (Schlötterer, 2000; Storz y Beaumont, 2002; Selkoe y Toonen, 2006). Se utilizaron los valores por defecto en los valores *hyperpriori* para  $M$  y  $V$  (Ver: Storz y Beaumont, 2002). Cada cadena fue corrida por  $1.25 \times 10^9$  pasos, registrando los parámetros cada 50,000 pasos. La convergencia entre las cadenas fue evaluada mediante el estadístico de Gelman–Rubin utilizando el paquete estadístico CODA 0.14–4 (Plummer *et al.*, 2006), e implementado en el ambiente de programación R (R Development Core Team, 2011). Los valores del estadístico de Gelman–Rubin de 1 a 1.1 indican una razonable convergencia y valores  $> 1.1$  indican una baja convergencia (Girod *et al.*, 2011).

Para dar soporte a la hipótesis de expansión o contracción poblacional, se usó el Factor Bayes (BF) (Beaumont, 1999; Storz y Beaumont, 2002). En el caso de dos modelos, BF

mide la magnitud de la evidencia a favor de un modelo u otro. La evaluación de la hipótesis disminución poblacional utilizando BF se puede realizar a partir de los datos simulados usando la probabilidad posterior en favor de la disminución poblacional:

$$BF = \frac{(N_0/N_1 \leq 1)}{(N_0/N_1 \geq 1)} \quad (1)$$

donde  $(N_0/N_1 \leq 1)$  es la probabilidad posterior en favor de la disminución poblacional y  $(N_0/N_1 \geq 1)$  es la probabilidad posterior de expansión poblacional (Storz y Beaumont, 2002). Las probabilidades posteriores son el número de estados en la cadena que la población se ha contraído o expandido (Girod *et al.*, 2011). Los valores de magnitud de BF en favor de la contracción poblacional indican un fuerte soporte ( $BF \geq 10$ ), soporte substancial ( $BF = 3-10$ ), ningún soporte ( $BF = 0.33-3$ ) y falsa detección ( $BF < 0.33$ ) (Girod *et al.*, 2011).

Una vez conocida la dinámica del  $N_e$  en el corto y largo plazo, se procedió al siguiente objetivo, el cual considera la evaluación del potencial evolutivo de la especie a partir de estimaciones de  $N_e$ .

### 6.3.1.5 Estimación del tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ )

La evaluación indirecta del potencial evolutivo de la especie se determinó mediante la estimación del tamaño efectivo poblacional  $N_e$ . Se utilizaron diversas aproximaciones con la finalidad de dar certidumbre a la estimación de este parámetro genético poblacional.

#### 6.3.1.5.1 Fórmula de Nei (1987)

Se realizó la estimación de  $N_e$  basado en la heterocigosidad de los microsatélites usando la fórmula de Nei (1987):

$$N_e = \frac{\left[ \frac{1}{(1-H_e)^2 - 1} \right]}{8\mu} \quad (2)$$

donde,  $\mu$  representa la tasa de mutación de los loci microsatélites y  $H_e$  es la heterocigosidad esperada. Se asumieron dos diferentes tasas de mutación, la primera estimada con DIY

ABC ( $\mu = 0.00054$ ) y la segunda mediante una recopilación de la literatura (Ellegren, 2000; Garza y Williamson, 2001a; Selkoe y Toonen, 2006) ( $\mu = 0.0005$ ).

### 6.3.1.5.2 Desequilibrio de ligamiento

Se aplicó también el método de desequilibrio de ligamiento (LD) para obtener el tamaño efectivo global. Este método se basa en la noción de que LD en marcadores neutrales, los loci no ligados en poblaciones aisladas con apareamiento al azar, el LD es afectado solo por la deriva, y por lo tanto, el nivel de asociación no al azar de alelos en diferentes loci debe reflejar  $N_e$  (Hill, 1981; Waples, 2006; Waples y Do, 2010).  $N_e$  fue estimado mediante el método no sesgado de LD (Waples, 2006; Waples y Do, 2010), el cual se encuentra implementado en el programa NeEstimator 2.0 (Do *et al.*, 2013).

### 6.3.1.5.3 Métodos Bayesianos

Se emplearon métodos de inferencia Bayesiana para la estimación de  $N_e$ . OneSamp, es un programa que usa una aproximación Bayesiana utilizando estadísticos resumen relacionados con  $N_e$  (Tallmon *et al.*, 2008). Por lo tanto, utiliza una mayor cantidad de información de los datos que los métodos anteriormente descritos. OneSamp genera 50,000 poblaciones simuladas con un  $N_e$  conocido, con el mismo número de loci e individuos que el grupo original de datos. Los datos simulados son generados al azar a partir de valores *a priori* de  $N_e$ . En este caso se utilizaron valores *a priori* de  $N_e$  de 100–5000. Los grupos de datos simulados con estadísticos resumen más similares a los estadísticos resumen de los datos originales son seleccionados. Finalmente se utiliza una regresión local ponderada a partir de los datos seleccionados para estimar  $N_e$  de la población original (Tallmon *et al.*, 2008).

Finalmente, se utilizó el programa DIY ABC (Cornuet *et al.*, 2008) otro método de inferencia Bayesiana que calcula  $N_e$ . El modelo demográfico para estimar  $N_e$  en una sola población requiere de muestras temporales de la población de estudio. Con la finalidad de simular un muestreo temporal, la base de datos original fue dividida en tres grupos de edad relativa en base a los registros de longitud total (<5 años, 970 mm; ~5 años, 970–1160 mm; >7 años, 1160 mm). El programa contrasta las estadísticas resumen de los datos originales,

contra 500,000 grupos de datos simulados con estadísticas resumen y  $N_e$  conocidos. El  $N_e$  de los datos simulados se crea a partir de una distribución uniforme, en este caso se utilizaron *a priori* de 100–5,000 de  $N_e$ . El 1% (5,000) de los datos simulados con las estadísticas resumen más similares a los datos originales, son seleccionados para estimar la distribución posterior de  $N_e$  a través de un procedimiento de regresión lineal local (Cornuet *et al.*, 2008).

### **6.3.2 Dinámica poblacional**

Los análisis de dinámica poblacional cubren los objetivos particulares 4) Evaluar la historia de vida de totoaba, 5) Estimar la tasa de crecimiento poblacional como indicador de la productividad de la población, 6) Inferir los impactos en la población ante escenarios de mortalidad por pesca y 7) Evaluar el riesgo de sobrepasar los puntos de referencia límite y objetivo de la tasa de crecimiento poblacional bajo diferentes escenarios de mortalidad por pesca. Primero, se analizan algunos parámetros poblacionales de totoaba, las cuales engloban el patrón espacial de estructura de tallas y la estimación parámetros de demográficos (*e.g.* relaciones biométricas, fecundidad, talla de primera reproducción, mortalidad). Estos a su vez, son los datos de entrada del modelo demográfico. En el análisis demográfico se calcula la productividad de totoaba, con base a su tasa de crecimiento poblacional, asumiendo incertidumbre en los parámetros demográficos. Este punto también evalúa los parámetros poblacionales (supervivencia y fecundidad) más sensibles ante perturbaciones con respecto a la tasa de crecimiento poblacional. Finalmente, se evalúa el riesgo de sobrepasar los puntos de referencia con base a la tasa de crecimiento poblacional a diferentes escenarios de mortalidad por pesca.

#### **6.3.2.1 Análisis de estructura de tallas**

Se determinó la estructura de tallas global, por sexo, y por localidad de muestreo. Con la finalidad de establecer los grupos modales en cada uno de los sexos, así como la distribución espacial de las tallas a lo largo del Golfo de California. La determinación estadística de los grupos modales de tallas observados, se realizó con un análisis multimodal con la ecuación:

$$P\{x_i|n, p_1, p_2, \dots, p_k\} = n! \prod_{i=1}^k \frac{p_i^{x_i}}{x_i!} \quad (3)$$

donde,  $P$  denota la probabilidad,  $x_i$  es el número de veces que un evento de tipo  $i$  ocurre en  $n$  muestras, y  $p_i$  es la probabilidad separada de cada uno de los eventos tipo  $k$  posibles. Para realizar el cálculo de los parámetros del modelo se utiliza la misma función, pero en términos de expresión de verosimilitud:

$$-\ln L\{x_i|n, p_1, p_2, \dots, p_k\} = \sum_{i=1}^k [x_i \ln(p_i)] \quad (4)$$

La estimación de los parámetros asume que cada longitud media o grupo modal puede ser descrito con una distribución normal, y que cada moda corresponde a una cohorte diferente en la población. Por lo tanto, las proporciones relativas esperadas para cada categoría de longitud ( $PL_T$ ) pueden ser estimadas mediante una función de densidad normal:

$$PL_T = \frac{1}{\sigma_T \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(L_T - \mu_T)^2}{2\sigma_T^2}} \quad (5)$$

donde,  $\mu_T$  es la media y  $\sigma_T$  es la desviación estándar de la longitud total para cada cohorte. Para la obtención de las frecuencias esperadas y los parámetros de la ecuación 3 se comparan las frecuencias observadas y estimadas (Haddon, 2001). La estimación de los parámetros se llevó a cabo mediante la siguiente función objetivo:

$$-\ln L\{L|\mu_T, \sigma_T\} = -\sum_{i=1}^k L_i \ln(p'_i) - \sum_{i=1}^k L_i \ln\left(\frac{L'_i}{\sum L'_i}\right) \quad (6)$$

donde  $\mu_T$  es la media y  $\sigma_T$  la desviación estándar de la longitud total, cada una de las  $n$  cohortes consideradas. Hay  $k$ , clases de longitud y  $L'_i$ , es la frecuencia observada de la clase de longitud  $i$  de la distribución normal combinada. Los parámetros del modelo se

calcularon al minimizar la función 6 de verosimilitud con un ajuste no lineal usando el algoritmo de Newton (Neter *et al.*, 1996).

### 6.3.2.2 Relaciones biométricas

#### 6.3.2.2.1 Relación longitud-peso

Se estimó la relación longitud total-peso total ( $LT$ - $PT$ ) mediante una función potencial, esta función permite obtener una estimación indirecta del tipo de crecimiento; el cual sería isométrico cuando el valor de la pendiente ( $b$ ) es cercano a 3 y alométrico cuando es diferente de 3 (Sparre y Vennema, 1995). Este procedimiento se llevó a cabo considerando todos los organismos así como por sexo. La relación fue dada por:

$$PT = a * LT^b \quad (7)$$

donde,  $PT$  = peso total (gr),  $LT$  = longitud total (mm),  $a$  = factor de condición (cambios relativos al peso; intercepto) y  $b$  = pendiente (tipo de crecimiento).

#### 6.3.2.2.1 Relación longitud total-longitud estándar

Se describió la relación longitud total-longitud patrón mediante una regresión lineal, como parte de un análisis exploratorio y verificar la consistencia en los datos de tallas. La relación fue dada por la función:

$$LP = b * (LT) + a \quad (8)$$

donde,  $LP$  = longitud patrón,  $LT$  = longitud total,  $a$  = intercepto y  $b$  = pendiente.

#### 6.3.2.3 Madures sexual

La determinación de la talla de primera madurez se estimó a partir de la frecuencia acumulada de individuos maduros por sexos y total, mediante el siguiente modelo logístico (King, 1995):

$$FA(\%) = \frac{1}{1 + \exp^{-a(LT - Lm50\%)}} \quad (9)$$

donde: FA(%) = es la frecuencia acumulada de individuos maduros, la identificación estadio de madures se determinó mediante análisis histológico de las gónadas.  $a$  = es un parámetro de ajuste que representa al intercepto,  $LT$  = es la longitud total y  $Lm_{50\%}$  = la talla a la cual el 50% de los individuos de la población se encuentran maduros o talla de primera madurez. Los parámetros del modelo fueron estimados mediante un ajuste no lineal usando mínimos cuadrados con el algoritmo de Newton (Neter *et al.*, 1996).

#### 6.3.2.4 Fecundidad

Se determinó la fecundidad parcial por kilogramo a la longitud total, mediante una función exponencial a partir de los datos generados en los muestreos (De Anda Montañez *et al.*, 2013):

$$fec = ae^{b(LT)} \quad (10)$$

donde,  $fec$  es la fecundidad parcial por kilogramo,  $a$  es el valor del intercepto,  $b$  el valor de la pendiente y  $LT$  la longitud total.

#### 6.3.2.5 Selectividad

Las curvas de selectividad para cañas (anzuelos No 5 y 6) y para red agallera de 10 pulgadas de luz de malla fue determinada mediante el ajuste empírico de tres formas de distribución: Gamma, Normal y Log-normal (Millar y Fryer, 1999; Hovgård y Lassen, 2000).

##### 6.3.2.5.1 Distribución gamma

$$V_n = \left[ \frac{l}{(\alpha - 1)\beta} \right]^{(\alpha - 1)} \left[ \alpha - 1 - \frac{l}{\beta} \right] \quad (11)$$

donde,  $V_n$  es la selectividad a la talla,  $l$  es la longitud de la marca de clase,  $\alpha$  y  $\beta$  son parámetros de ajuste.

##### 6.3.2.5.2 Distribución normal

$$V_n = \exp \left[ -\frac{(l - \theta)^2}{2\sigma^2} \right] \quad (12)$$

donde,  $\theta$  es la media y  $\sigma$  desviación estándar.

### 6.3.2.5.3 Distribución log-normal

$$V_n = \frac{1}{l} \exp \left[ \delta - \frac{s^2}{2} - \frac{(\ln(l) - \delta)^2}{2s} \right] \quad (13)$$

donde,  $\delta$  y  $s$  son parámetros de ajuste.

La forma de las distribuciones fue ajustada a las frecuencias de tallas observadas mediante mínimos cuadrados. Se determinó el rango de selección del 25% ( $V_{n25\%}$ ) al 75% ( $V_{n75\%}$ ) para cada tipo de distribución y arte de pesca.

### 6.3.2.6 Mortalidad

#### 6.3.2.6.1 Mortalidad total (Z)

Para esta sección se tomaron los valores de edad relativa y crecimiento determinados por De Anda Montañez *et al.* (2013). Para determinar Z se utilizó el método de curva de captura linealizada con intervalos de tiempo constantes (Sparre y Vennema, 1995), que considera una regresión lineal entre el logaritmo de la captura y los grupos de edad relativa, para ello se aplicó la siguiente función:

$$\ln C(t + \Delta t) = a - Z * t \quad (14)$$

donde:  $\ln C(t, t+\Delta t)$  = es el logaritmo de la captura en el intervalo de tiempo (1 año),  $a$  = constante (intercepto),  $Z$  = el valor de la pendiente (mortalidad total) y  $t$  = grupo de edad relativa de la captura.

#### 6.3.2.6.2 Mortalidad natural (M)

Se realizó una revisión de los métodos disponibles para estimar la mortalidad natural, de los cuales solo fue posible calcularla mediante algunos parámetros demográficos: como son el crecimiento individual, edad o longitud máxima así como edad de primera madurez.

Debido a lo difícil que es estimar  $M$  en la naturaleza, se procedió a estimarla mediante diversos métodos que se describen a continuación. Esto posibilita el contar con un rango probable de valores de  $M$  que pueden ser considerados en el análisis de incertidumbre y riesgo (ver adelante: análisis de riesgo)

#### 6.3.2.6.2.1 Método Beverton y Holt (1959)

La base de este método es que las especies de crecimiento lento ( $k$  bajo), no pueden soportar una  $M$  alta por que se extinguirían rápidamente. Respecto a esta racionalización Beverton y Holt (1959) hallaron que los valores de la razón:

$$M/k \approx 1.5 \quad (15)$$

Por lo que:

$$M \approx 1.5 * k \quad (16)$$

donde,  $M$  = mortalidad natural y  $k$  = es la constante de la tasa de crecimiento individual.

#### 6.3.2.6.2.2 Método de Rikther y Efanov(1976)

Estos autores mostraron que existe una relación entre  $M$  y longitud de primera madurez que es la edad en que el 50% de la población se encuentra madura ( $T_{m50\%}$ ). La relación es dada por:

$$M = 1.521/(T_{m50\%}^{0.720}) - 0.155 \quad (17)$$

#### 6.3.2.6.2.3 Método de Hoenig(1983) Hewitt y Hoenig(2005)

Hoenig (1983) encontró que  $M$  se encuentra inversamente correlacionada con la longevidad a través de varios taxa por lo que recomendó la siguiente función predictiva, descrita por la edad máxima observada en el stock ( $T_{max}$ ):

$$\ln M = -1.44 - 0.982 * \ln(T_{max}) \quad (18)$$

Una derivación análoga a partir de la ecuación anterior fue propuesta por Hewitt y Hoenig (2005):

$$M \approx 4.22/T_{max} \quad (19)$$

#### 6.3.2.6.2.4 Método de Pauly (1980)

Otra estimación de mortalidad natural se llevó a cabo utilizando la función descrita por Pauly (1980) que considera los parámetros de crecimiento individual de la función de von Bertalanffy así como la temperatura ambiente promedio de la zona de distribución:

$$M = 0.8 * \exp[-0.0152 - 0.279 * \ln(L_{\infty}) + 0.6543 * \ln(k) + 0.463 * \ln(T_c)] \quad (20)$$

donde,  $L_{\infty}$  = longitud asintótica del modelo de von Bertalanffy y  $T_c$  = temperatura °C, se utilizó un valor de 19 °C (Cisneros-Mata *et al.*, 1995).

#### 6.3.2.6.2.5 Método de Gislason *et al.* (2010)

Gislason *et al.* (2010) estimaron de nuevo la relación existente entre  $L_{\infty}$ ,  $k$  y la temperatura pero en grados Kelvin, al igual que Pauly (1980). No obstante, con un número mayor de datos y mejor depurados. La función estima la mortalidad para diferentes estadios de vida del organismo, cambiando la perspectiva de la misma tasa de mortalidad natural para todas las clases de tallas. Esta estimación se realizó mediante la función:

$$\ln(M) = 0.55 - 1.61\ln(LT) + 1.44\ln(L_{\infty}) + \ln(k) \quad (21)$$

### 6.3.2.7 Modelo Demográfico

Para evaluar el efecto de diversos niveles de mortalidad por pesca sobre la tasa intrínseca de crecimiento poblacional se utilizó la matriz de Leslie, la cual es representada de la siguiente manera:

$$N_t = A * N_0 \quad (22)$$

donde  $N_0$  es el vector de abundancia inicial en una población estructurada por edad.  $A$  representa la matriz de Leslie con entradas  $a_{i,j}$  la cual es definida de la siguiente manera:

$$A = \begin{bmatrix} f_0 & f_1 & f_2 & \dots & \dots & f_n \\ S_0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & S_1 & 0 & 0 & 0 & \vdots \\ 0 & 0 & S_2 & 0 & 0 & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \ddots & 0 & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & S_n & 0 \end{bmatrix} \quad (23)$$

la fila superior corresponde a la fecundidad a la edad ( $f_n$ ), y en la diagonal a la supervivencia a la edad ( $S_n$ ) la cual está definida por:

$$S_n = e^{(-F * V_n - M)} \quad (24)$$

$f_n$  fue calculada como el producto de  $S_n$  y la fecundidad ( $fec$ ). Al realizar una proyección multiplicando  $n$  veces la ecuación  $A * N_{t+1}$ . Se obtiene numéricamente una población estable con un eigenvalor dominante  $\lambda$  (tasa neta de crecimiento poblacional), que es análoga a la tasa de intrínseca de crecimiento poblacional  $r$  ( $r = \log(\lambda)$ ) (Caswell, 2001). Cuando  $\lambda = 1$  la población permanece estable,  $\lambda < 1$  la población disminuye y  $\lambda > 1$  la población crece. También se obtienen los eigenvectores derecho ( $w$ ) e izquierdo ( $v$ ) que representan la estructura estable por edad y el valor reproductivo a la edad, respectivamente. La solución a los eigenvalores y eigenvectores se alcanza independientemente de los valores de  $N_0$  iniciales y satisfacen las igualdades para el eigenvector-eigenvalor derecho (Caswell, 2001):

$$Aw = \lambda w \quad (25)$$

Para obtener los eigenvector-eigenvalor izquierdo que  $A$  se transpone ( $A^T$ ) para resolver:

$$A^T \mathbf{v} = \lambda \mathbf{v} \quad (26)$$

Para determinar la importancia relativa de los elementos  $a_{i,j}$  ( $f_n$  y  $S_n$ ) de  $A$  y medir su efecto en  $\lambda$ , se determinó la elasticidad ( $E$ ), la cual mide la magnitud proporcional al cambio de  $\lambda$  dado un cambio en las tasas vitales  $a_{i,j}$  ( $f_n$  y  $S_n$ ) y está dada por (Caswell, 2001):

$$E_{i,j} = \frac{a_{i,j}}{\lambda} \frac{\partial \lambda}{\partial a_{i,j}} = \frac{\partial \log \lambda}{\partial \log a_{i,j}} = \frac{a_{i,j}}{\lambda} \frac{\mathbf{v}_i \mathbf{w}_j}{\langle \mathbf{w} | \mathbf{v} \rangle} \quad (27)$$

donde  $E_{i,j}$  es la elasticidad de los elementos de la matriz de elasticidad, la matriz fue resuelta usando el programa de CSIRO Poptools V 3.2 (Hood, 2011).

### 6.3.2.7.1 Parámetros demográficos

Los parámetros de historia de vida de totoaba fueron reestimados a partir de datos actuales. La estimación del valor de  $M$  del grupo de edad 1 ( $M_1$ ) se llevó a cabo mediante la estimación de intervalos gnomónicos utilizando el macro GIM (Morales-Bojórquez *et al.*, 2003). También se realizó una estimación numérica de  $M_l$  dejando fijos los parámetros demográficos y estableciendo  $\lambda = 1$  (Rogers-Bennett y Leaf, 2006). El valor de  $M$  para el resto de los grupos de edad fue estimado mediante diversas aproximaciones (Beverton y Holt, 1959; Rikhter y Efanov, 1976; Pauly, 1980; Hoenig, 1983; Hewitt y Hoenig, 2005; Gislason *et al.*, 2010). El porcentaje de individuos maduros se estimó en base a la función logística descrita anteriormente (Ecuación 9). El modelo matricial considera la proporción sexual 1:1 estimada por De-Anda-Montañez *et al.*, (2013) y se calculó la fecundidad total parcial por kilogramo como:

$$fec = 0.5 w_t a e^{b(LT_t)} \quad (28)$$

donde,  $w_t$  = peso total en kilogramos al tiempo  $t$ ,  $LT_t$  = longitud total al tiempo  $t$ ,  $a$  y  $b$  son los coeficientes de la función. Los parámetros del modelo de crecimiento de Von Bertalanffy fueron estimados con datos de tallas y en base al organismo de mayor longitud obtenidos en los muestreos de 2010–2012 (De Anda Montañez *et al.*, 2013).

La selectividad del arte de pesca ( $V_n$ ) fue calculada en base a un ajuste empírico a partir de las estructuras de tallas obtenidas mediante cañas y redes en los muestreos de los años 2010–2013. La estimación de  $V_n$  permite ponderar la magnitud de la mortalidad por pesca (F) en función de su longitud total. Se usaron los parámetros resultantes de la distribución normal (Ecuación 12), el valor de  $\theta$  correspondiente a las longitudes para las edades de 3, 5, 7 y 9 años de edad. Las edades fueron seleccionadas arbitrariamente y corresponden a seis grupos de edad, tres de juveniles (3, 5 y 7 años) y tres de adultos (9, 11 y 13 años).

#### 6.3.2.7.2 Escenarios de manejo

Para evaluar el impacto de F en  $\lambda$  se evaluaron diferentes escenarios de manejo:

**Escenario A:** Es el escenario base, sin mortalidad por pesca ( $F = 0$ ). El objetivo en este escenario fue determinar  $\lambda$  cuando la población se encuentra sin mortalidad por pesca.

**Escenarios B:** Este grupo de escenarios asumen que la mortalidad por pesca es tipo filo de cuchillo. Es decir, todos los organismos son 100% vulnerables a F, a partir de la edad de primera captura ( $V_{50\%}$ ). Se analizaron cuatro sub-escenarios con diferentes  $V_{50\%}$ : 3, 5, 7, 9, 11 y 13 años de edad (estados de la naturaleza o edades hipotéticas de primera captura). En cada uno de los sub-escenarios se evaluó el impacto de diferentes niveles de F en  $\lambda$ . Los valores de F variaron desde  $F = 0.1$  a  $F = 2.0$  con incrementos de  $\Delta F = 0.1$ .

**Escenarios C:** Este grupo de escenarios asumen que la mortalidad por pesca tiene una distribución normal el cual es un comportamiento típico de redes agalleras. Es decir, los organismos cuentan con diferentes niveles de vulnerabilidad a F a partir de  $V_{50\%}$ . Se analizaron cuatro sub-escenarios con diferentes  $V_{50\%}$ : 3, 5, 7, 9, 11 y 13 años de edad (estados de la naturaleza o edades hipotéticas de primera captura). En cada uno de los sub-escenarios se evaluó el impacto de diferentes niveles de F en  $\lambda$ . Los valores de F variaron desde  $F = 0.1$  a  $F = 2.0$  con incrementos de  $\Delta F = 0.1$ .

#### 6.3.2.7.3 Análisis de riesgo

Los recursos marinos sean pescables o no, involucran diversas fuentes de incertidumbre que son difíciles de cuantificar por métodos analíticos tradicionales. La simulación Monte Carlo es una técnica robusta para incorporar incertidumbre y cuantificar el riesgo de

exceder algún punto de referencia. Dado que  $\lambda$  es un indicador de la productividad de la población se pueden derivar estimaciones del estado de la población, así como establecer puntos de referencia, los cuales son valores asociados a condiciones deseadas y no deseadas de la población (Caddy y Mahon, 1995). El punto de referencia objetivo (PRO) se enfoca en las condiciones deseables de una población; en este caso particular se estableció como  $PRO = P(\lambda > 1.2)$ , el cual indica una condición que permite a la población un tasa de crecimiento poblacional positiva. Por otro lado, el punto de referencia límite (PRL) considera la condición no deseable de una población, por lo tanto, uno espera que las probabilidades de este evento sean mínimas para el manejo de su población. El presente estudio estableció un  $PRL = P(\lambda < 1.0)$ , que se refiere a la condición de disminución de la población. Se estimó la probabilidad de sobrepasar los PRL y PRO para cada uno de los escenarios y estados de la naturaleza.

En todos los escenarios se incorporó incertidumbre en los parámetros demográficos, el tipo de distribución para cada parámetro fue elegido de acuerdo a reportes en la literatura (Cortés, 2002; Romine *et al.*, 2009; Quiroz *et al.*, 2011) (Tabla II). Se empleó una función triangular para la edad de primera madurez (media: 8 años, rango: 7 y 9 años), se utilizó una función normal en el parámetro  $b$  de la función de fecundidad (media: 0.004, desv.est.: 0.0003), en mortalidad natural de  $M_0$  se utilizó una distribución normal (media: 8.6, sd: 0.85). El valor de  $M$  en los restantes grupos de edad se asumió una distribución uniforme conforme al resultado mínimo de mortalidad natural y la máxima mortalidad estimada asumiendo que  $M = Z$ , es decir, bajo condiciones de no pesca (rango: 0.14-0.49) (Tabla II). El número de corridas realizadas en cada subescenario para cada incremento de  $F$  y estado de la naturaleza fue de 10,000. El proceso de simulación se llevó a cabo usando el programa CrystallBall (Oracle, CrystallBall Enterprise Performace Edition).

**Tabla II.** Parámetros demográficos de totoaba en el Golfo de California.

| <b>Parámetro</b>            | <b>Símbolo</b> | <b>Valor</b> | <b>DE*</b> | <b>Rango</b> | <b>Distribución</b> |
|-----------------------------|----------------|--------------|------------|--------------|---------------------|
| Longitud asintótica         | $L_{\infty}$   | 1860         |            |              | Constante           |
| Coefficiente de crecimiento | $k$            | 0.13         |            |              | Constante           |
| Edad a la longitud cero     | $t_0$          | -1.72        |            |              | Constante           |
| Relación longitud peso      | $a$            | 0.000003     |            |              | Constante           |
|                             | $b$            | 3.158        |            |              | Constante           |
| Edad al 50% de Madurez      | $T_{m50\%}$    | 8 años       |            | 7-9 años     | Triangular          |
| Fecundidad                  | $fec$          |              |            |              | Variable            |
|                             | $a$            | 221.7        |            |              | Constante           |
|                             | $b$            | 0.004        | 0.0003     |              | Normal              |
| Mortalidad natural          | $M_0$          | 8.63         | 0.86       |              | Normal              |
| Mortalidad natural          | $M_{n-1}$      |              |            | 0.14-0.49    | Uniforme            |

\*Desviación estándar

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Genética de poblaciones

#### 7.1.1. Calidad de los marcadores

Se estimaron las proporciones de alelos nulos en los loci microsatélites utilizados en totoaba. Tres loci microsatélites presentaron niveles moderados de alelos nulos (*Soc430*, *Tmac74* y *Tmac56*) mientras que el resto presentaron niveles bajos de alelos nulos (Tabla III). Así mismo, no se detectaron niveles significativos de desequilibrio de ligamiento entre los loci ( $p \geq 0.000327$ ).

**Tabla III.** Estimación de la proporción de alelos nulos para los 19 loci microsatélites utilizados en *Totoaba macdonaldi* capturada en el Golfo de California. La proporción fue calculada mediante el método de Depmster (1977) implementado en FreeNa (Chapuis y Estoup, 2007). La proporción de alelos nulos puede considerarse como: bajos ( $< 0.05$ ), moderada (0.05–0.20) y altos ( $> 0.20$ ).

| Locus         | Alelos nulos | Locus          | Alelos nulos |
|---------------|--------------|----------------|--------------|
| <b>Tmac25</b> | 0.0000       | <b>Soc418</b>  | 0.0106       |
| <b>Soc430</b> | 0.0831       | <b>Tmac51</b>  | 0.0000       |
| <b>Soc428</b> | 0.0000       | <b>Tmac07a</b> | 0.0271       |
| <b>Tmac10</b> | 0.0000       | <b>Tmac03</b>  | 0.0011       |
| <b>Tmac06</b> | 0.0321       | <b>Soc443</b>  | 0.0001       |
| <b>Tmac43</b> | 0.0025       | <b>Tmac74</b>  | 0.0857       |
| <b>Tmac44</b> | 0.0205       | <b>Soc423</b>  | 0.0000       |
| <b>Tmac05</b> | 0.0150       | <b>Tmac55</b>  | 0.0076       |
| <b>Tmac08</b> | 0.0085       | <b>Tmac56</b>  | 0.0717       |

### 7.1.2 Diversidad genética por localidad

Se obtuvieron los genotipos para 313 organismos en seis localidades del Golfo de California: Zona Núcleo (ZN = 105), Sur de San Felipe (SSF = 11), San Luis Gonzaga (SLG = 102), Roca Consag (RC = 64), Bahía de Lobos (BL = 28) y Desemboque (DES = 3) (Figura 2). Los valores de diversidad genética por locus por localidad, así como los valores promedio multilocus por localidad y valores promedio global multilocus se muestran en la Tabla IV. El número de alelos ( $\omega$ ) se encontró en el rango de 1 a 29 con un promedio global multilocus para todas las localidades de  $8.31 \pm 6.18$ . El número efectivo de alelos ( $\omega_e$ ) tomó valores de 1 a 20.1 con un promedio global multilocus de  $4.46 \pm 3.60$  mientras que la riqueza alélica ( $R$ ) varió de 0.63 a 4 con un promedio global multilocus de  $2.65 \pm 0.69$ . La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) presentó un promedio global multilocus de  $0.65 \pm 0.22$  con valores de 0.0 a 1.0 y la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) contó con un promedio global multilocus de  $0.65 \pm 0.21$  con un rango de valores de 0.0 a 0.95. Los valores de la heterocigosidad esperada insesgada ( $uH_e$ ) fueron similares a los anteriores con valores de 0.0 a 1.0 y con un promedio global multilocus de  $0.68 \pm 0.18$ . Cabe mencionar que los valores cero en  $H_o$  y  $H_e$  fueron para el locus *Soc430* que resultó ser monomórfico en la localidad de Desemboque, en la cual solo fueron evaluados cuatro individuos. El índice de fijación ( $F_{is}$ ) presentó valores de -0.50 a 0.75, este último valor corresponde al locus *Tmac74* en la localidad SSF. El promedio global multilocus de  $F_{is}$  fue de  $0.03 \pm 0.18$ .

Casi todas las localidades se encontraron en desequilibrio de Hardy–Weinberg ( $H-W$ ) con valores positivos significativos de  $F_{is}$ , cuando se analizaron los 18 loci microsatélites. Al interior de las localidades, se encontraron desviaciones significativas del equilibrio de  $H-W$  en siete loci, en al menos una localidad a un nivel de  $p \leq 0.05$  (*Tmac06*, *Tmac07a*, *Tmac74*, *Tmac56*, *Tmac08*, *Soc430* y *Tmac55*) (Tabla IV). Sin embargo, después de la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples a un nivel de  $p \leq 0.00046$  sólo dos loci presentaron desviaciones significativas de  $H-W$  *Tmac74* y *Soc430*. *Tmac74* presentó desviaciones de  $H-W$  en la mayoría de las localidades (ZN, SSF, SLG y BL) mientras que *Soc430* sólo ZN (Tabla IV).

**Tabla IV.** Valores de diversidad genética de 18 loci microsátélites de totoaba por localidad por locus. Tamaño efectivo de muestra ( $N$ ), número de alelos ( $\omega$ ), número de alelos efectivos ( $\omega_e$ ), riqueza alélica ( $R$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), heterocigosidad esperada insesgada ( $uH_e$ ), índice de fijación ( $F_{is}$ ), valor de significancia de índice de fijación respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg. Los valores sombreados con gris representan valores significativos.

| Localidad | Locus    | $N$   | $k$   | $k_e$ | $R$  | $H_o$ | $H_e$ | $uH_e$ | $F_{is}$ | $p$ -val |
|-----------|----------|-------|-------|-------|------|-------|-------|--------|----------|----------|
| ZN        | Tmac25   | 97    | 16    | 8.8   | 3.41 | 0.93  | 0.89  | 0.89   | -0.04    | 0.1985   |
|           | Soc430   | 103   | 8     | 2.0   | 2.11 | 0.44  | 0.51  | 0.51   | 0.15     | 0.0000   |
|           | Soc428   | 105   | 8     | 4.0   | 2.77 | 0.76  | 0.75  | 0.75   | -0.01    | 0.3960   |
|           | Tmac10   | 104   | 8     | 3.6   | 2.67 | 0.74  | 0.72  | 0.72   | -0.02    | 0.4656   |
|           | Tmac06   | 100   | 16    | 8.1   | 3.36 | 0.79  | 0.88  | 0.88   | 0.10     | 0.0079   |
|           | Tmac43   | 105   | 6     | 1.3   | 1.42 | 0.23  | 0.21  | 0.21   | -0.09    | 1.0000   |
|           | Tmac44   | 96    | 9     | 4.2   | 2.85 | 0.76  | 0.76  | 0.77   | 0.01     | 0.4845   |
|           | Tmac05   | 103   | 6     | 2.0   | 2.07 | 0.47  | 0.51  | 0.51   | 0.09     | 0.0978   |
|           | Tmac08   | 91    | 7     | 3.3   | 2.59 | 0.67  | 0.70  | 0.71   | 0.05     | 0.6938   |
|           | Soc418   | 99    | 22    | 7.4   | 3.31 | 0.88  | 0.86  | 0.87   | -0.01    | 0.4750   |
|           | Tmac51   | 103   | 22    | 10.6  | 3.51 | 0.87  | 0.91  | 0.91   | 0.04     | 0.1654   |
|           | Tmac07a  | 100   | 5     | 1.7   | 1.87 | 0.38  | 0.42  | 0.42   | 0.10     | 0.0144   |
|           | Tmac03   | 102   | 5     | 1.9   | 1.98 | 0.49  | 0.48  | 0.49   | -0.00    | 0.0889   |
|           | Soc443   | 104   | 5     | 1.8   | 1.84 | 0.42  | 0.43  | 0.44   | 0.032    | 0.7243   |
|           | Tmac74   | 94    | 29    | 17.5  | 3.70 | 0.70  | 0.94  | 0.95   | 0.26     | 0.0000   |
|           | Soc423   | 104   | 9     | 3.0   | 2.53 | 0.63  | 0.67  | 0.67   | 0.07     | 0.1677   |
|           | Tmac55   | 97    | 14    | 6.7   | 3.25 | 0.87  | 0.85  | 0.85   | -0.01    | 0.7294   |
|           | Tmac56   | 95    | 10    | 4.5   | 2.92 | 0.68  | 0.78  | 0.78   | 0.13     | 0.0145   |
|           |          | 100.1 |       |       |      |       |       |        |          |          |
|           | Promedio | 1     | 11.39 | 5.14  | 2.67 | 0.65  | 0.68  | 0.69   | 0.05     | 0.0000   |
|           | Desv.Est | 4.24  | 7.00  | 4.15  | 0.67 | 0.20  | 0.21  | 0.21   | 0.08     |          |
| SSF       | Tmac25   | 10    | 10    | 7.7   | 3.52 | 0.90  | 0.87  | 0.92   | 0.02     | 0.44120  |
|           | Soc430   | 11    | 2     | 1.4   | 1.58 | 0.18  | 0.30  | 0.31   | 0.43     | 0.27820  |
|           | Soc428   | 11    | 4     | 2.6   | 2.41 | 0.91  | 0.62  | 0.65   | -0.44    | 0.16820  |
|           | Tmac10   | 11    | 5     | 3.4   | 2.71 | 0.73  | 0.70  | 0.74   | 0.01     | 0.91700  |
|           | Tmac06   | 11    | 6     | 3.8   | 2.85 | 0.91  | 0.74  | 0.77   | -0.19    | 0.91700  |
|           | Tmac43   | 11    | 3     | 1.2   | 1.36 | 0.18  | 0.17  | 0.18   | -0.03    | 1.00000  |
|           | Tmac44   | 6     | 6     | 4.0   | 3.08 | 0.83  | 0.75  | 0.82   | -0.02    | 0.46980  |
|           | Tmac05   | 11    | 4     | 2.5   | 2.39 | 0.45  | 0.60  | 0.62   | 0.28     | 0.13240  |
|           | Tmac08   | 11    | 4     | 2.6   | 2.35 | 0.36  | 0.62  | 0.65   | 0.46     | 0.0460   |
|           | Soc418   | 8     | 6     | 4.7   | 3.14 | 0.50  | 0.79  | 0.84   | 0.42     | 0.13830  |
|           | Tmac51   | 11    | 14    | 11.0  | 3.72 | 0.91  | 0.91  | 0.95   | 0.05     | 0.57010  |
|           | Tmac07a  | 10    | 3     | 1.7   | 1.88 | 0.50  | 0.41  | 0.43   | -0.18    | 1.00000  |
|           | Tmac03   | 11    | 4     | 2.1   | 2.11 | 0.55  | 0.52  | 0.54   | -0.01    | 1.00000  |
| Soc443    | 11       | 2     | 1.5   | 1.67  | 0.45 | 0.35  | 0.37  | -0.25  | 1.00000  |          |

Continúa Tabla IV...

| <b>Localidad</b> | <b>Locus</b>    | <b><i>N</i></b> | <b><i>k</i></b> | <b><i>k<sub>e</sub></i></b> | <b><i>R</i></b> | <b><i>H<sub>o</sub></i></b> | <b><i>H<sub>e</sub></i></b> | <b><i>uH<sub>e</sub></i></b> | <b><i>Fis</i></b> | <b><i>p-val</i></b> |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------|---------------------|
|                  | <b>Tmac74</b>   | 8               | 9               | 8.0                         | 3.61            | 0.25                        | 0.88                        | 0.93                         | 0.75              | <b>0.0000</b>       |
|                  | <b>Soc423</b>   | 11              | 6               | 3.3                         | 2.75            | 0.64                        | 0.69                        | 0.73                         | 0.13              | 0.12920             |
|                  | <b>Tmac55</b>   | 11              | 10              | 5.8                         | 3.29            | 0.91                        | 0.83                        | 0.87                         | -0.05             | 0.31480             |
|                  | <b>Tmac56</b>   | 11              | 5               | 4.9                         | 3.09            | 0.73                        | 0.80                        | 0.84                         | 0.14              | 0.76680             |
|                  | <b>Promedio</b> | 10.28           | 5.72            | 4.01                        | 2.64            | 0.61                        | 0.64                        | 0.67                         | 0.08              | <b>0.0007</b>       |
|                  | <b>Desv.Est</b> | 1.45            | 3.18            | 2.66                        | 0.72            | 0.26                        | 0.22                        | 0.23                         | 0.29              |                     |
| <b>SLG</b>       | <b>Tmac25</b>   | 94              | 15              | 9.3                         | 3.44            | 0.89                        | 0.89                        | 0.90                         | 0.00              | 0.9878              |
|                  | <b>Soc430</b>   | 98              | 9               | 2.2                         | 2.19            | 0.44                        | 0.53                        | 0.54                         | 0.18              | <b>0.0160</b>       |
|                  | <b>Soc428</b>   | 102             | 8               | 4.3                         | 2.85            | 0.76                        | 0.77                        | 0.77                         | 0.01              | 0.1762              |
|                  | <b>Tmac10</b>   | 100             | 9               | 3.5                         | 2.66            | 0.81                        | 0.71                        | 0.72                         | -0.13             | 0.3805              |
|                  | <b>Tmac06</b>   | 94              | 18              | 8.1                         | 3.37            | 0.87                        | 0.88                        | 0.88                         | 0.01              | <b>0.0376</b>       |
|                  | <b>Tmac43</b>   | 98              | 5               | 1.4                         | 1.60            | 0.29                        | 0.29                        | 0.29                         | 0.02              | 0.2927              |
|                  | <b>Tmac44</b>   | 98              | 9               | 3.9                         | 2.78            | 0.68                        | 0.74                        | 0.75                         | 0.09              | 0.2349              |
|                  | <b>Tmac05</b>   | 99              | 6               | 1.8                         | 1.93            | 0.47                        | 0.44                        | 0.44                         | -0.08             | 0.8569              |
|                  | <b>Tmac08</b>   | 96              | 8               | 3.5                         | 2.61            | 0.67                        | 0.71                        | 0.71                         | 0.07              | <b>0.0056</b>       |
|                  | <b>Soc418</b>   | 98              | 18              | 7.0                         | 3.27            | 0.85                        | 0.86                        | 0.86                         | 0.02              | 0.8270              |
|                  | <b>Tmac51</b>   | 100             | 24              | 12.4                        | 3.57            | 0.96                        | 0.92                        | 0.92                         | -0.04             | 0.8803              |
|                  | <b>Tmac07a</b>  | 95              | 4               | 1.9                         | 2.02            | 0.53                        | 0.48                        | 0.49                         | -0.08             | 0.0715              |
|                  | <b>Tmac03</b>   | 102             | 4               | 1.8                         | 1.91            | 0.44                        | 0.45                        | 0.45                         | 0.02              | 0.3206              |
|                  | <b>Soc443</b>   | 101             | 4               | 2.0                         | 1.95            | 0.51                        | 0.50                        | 0.51                         | -0.02             | 0.5725              |
|                  | <b>Tmac74</b>   | 94              | 28              | 20.1                        | 3.74            | 0.83                        | 0.95                        | 0.96                         | 0.13              | <b>0.0001</b>       |
|                  | <b>Soc423</b>   | 99              | 8               | 2.9                         | 2.46            | 0.65                        | 0.65                        | 0.66                         | 0.02              | 0.4702              |
|                  | <b>Tmac55</b>   | 100             | 16              | 7.2                         | 3.30            | 0.79                        | 0.86                        | 0.87                         | 0.09              | <b>0.0266</b>       |
|                  | <b>Tmac56</b>   | 101             | 10              | 4.6                         | 2.95            | 0.66                        | 0.78                        | 0.79                         | 0.16              | <b>0.0009</b>       |
|                  | <b>Promedio</b> | 98.28           | 11.28           | 5.43                        | 2.70            | 0.67                        | 0.69                        | 0.69                         | 0.03              | <b>0.0000</b>       |
|                  | <b>Desv.Est</b> | 2.70            | 7.04            | 4.76                        | 0.66            | 0.19                        | 0.20                        | 0.20                         | 0.08              |                     |
| <b>RC</b>        | <b>Tmac25</b>   | 63              | 16              | 9.4                         | 3.45            | 0.87                        | 0.89                        | 0.90                         | 0.03              | 0.4070              |
|                  | <b>Soc430</b>   | 62              | 8               | 2.2                         | 2.21            | 0.48                        | 0.55                        | 0.55                         | 0.12              | <b>0.0043</b>       |
|                  | <b>Soc428</b>   | 64              | 7               | 4.3                         | 2.86            | 0.77                        | 0.77                        | 0.78                         | 0.01              | 0.6387              |
|                  | <b>Tmac10</b>   | 61              | 7               | 3.3                         | 2.58            | 0.69                        | 0.69                        | 0.70                         | 0.015             | 0.8260              |
|                  | <b>Tmac06</b>   | 62              | 16              | 7.0                         | 3.29            | 0.69                        | 0.86                        | 0.86                         | 0.20              | <b>0.0025</b>       |
|                  | <b>Tmac43</b>   | 64              | 3               | 1.2                         | 1.34            | 0.17                        | 0.17                        | 0.17                         | 0.00              | 0.1388              |
|                  | <b>Tmac44</b>   | 61              | 9               | 4.2                         | 2.87            | 0.75                        | 0.76                        | 0.77                         | 0.02              | 0.8307              |
|                  | <b>Tmac05</b>   | 64              | 4               | 2.3                         | 2.22            | 0.52                        | 0.56                        | 0.56                         | 0.08              | 0.1500              |
|                  | <b>Tmac08</b>   | 63              | 8               | 3.3                         | 2.59            | 0.79                        | 0.70                        | 0.70                         | -0.13             | 0.2604              |
|                  | <b>Soc418</b>   | 63              | 16              | 7.1                         | 3.29            | 0.76                        | 0.86                        | 0.87                         | 0.12              | 0.1431              |
|                  | <b>Tmac51</b>   | 64              | 19              | 10.4                        | 3.51            | 0.92                        | 0.90                        | 0.91                         | -0.01             | 0.7364              |
|                  | <b>Tmac07a</b>  | 64              | 4               | 1.6                         | 1.76            | 0.34                        | 0.37                        | 0.37                         | 0.08              | 0.0504              |
|                  | <b>Tmac03</b>   | 64              | 4               | 1.7                         | 1.83            | 0.41                        | 0.41                        | 0.41                         | 0.01              | 0.5120              |
|                  | <b>Soc443</b>   | 63              | 4               | 1.9                         | 1.86            | 0.48                        | 0.47                        | 0.47                         | -0.02             | 1.0000              |
|                  | <b>Tmac74</b>   | 62              | 28              | 17.2                        | 3.71            | 0.90                        | 0.94                        | 0.95                         | 0.05              | 0.8594              |

Continúa Tabla IV...

| Localidad  | Locus    | N     | k    | k <sub>e</sub> | R    | H <sub>o</sub> | H <sub>e</sub> | uH <sub>e</sub> | Fis    | p-val  |
|------------|----------|-------|------|----------------|------|----------------|----------------|-----------------|--------|--------|
|            | Soc423   | 64    | 8    | 3.0            | 2.52 | 0.66           | 0.67           | 0.67            | 0.03   | 0.9038 |
|            | Tmac55   | 64    | 11   | 5.6            | 3.13 | 0.81           | 0.82           | 0.83            | 0.02   | 0.3724 |
|            | Tmac56   | 64    | 7    | 3.7            | 2.75 | 0.64           | 0.73           | 0.74            | 0.13   | 0.0047 |
|            | Promedio | 63.11 | 9.94 | 4.96           | 2.65 | 0.65           | 0.67           | 0.68            | 0.04   | 0.0000 |
|            | Desv.Est | 1.08  | 6.63 | 4.06           | 0.68 | 0.21           | 0.21           | 0.22            | 0.07   |        |
| <b>BL</b>  | Tmac25   | 23    | 14   | 8.4            | 3.45 | 0.87           | 0.88           | 0.90            | 0.04   | 0.6444 |
|            | Soc430   | 22    | 8    | 2.2            | 2.28 | 0.41           | 0.55           | 0.56            | 0.27   | 0.0498 |
|            | Soc428   | 27    | 5    | 3.9            | 2.78 | 0.89           | 0.74           | 0.76            | -0.18  | 0.0949 |
|            | Tmac10   | 28    | 5    | 3.8            | 2.74 | 0.68           | 0.74           | 0.75            | 0.10   | 0.3659 |
|            | Tmac06   | 25    | 14   | 4.9            | 3.09 | 0.84           | 0.80           | 0.81            | -0.03  | 0.2355 |
|            | Tmac43   | 27    | 4    | 1.4            | 1.53 | 0.30           | 0.26           | 0.27            | -0.12  | 1.0000 |
|            | Tmac44   | 26    | 8    | 3.6            | 2.76 | 0.62           | 0.72           | 0.74            | 0.17   | 0.2234 |
|            | Tmac05   | 28    | 4    | 2.1            | 2.08 | 0.64           | 0.52           | 0.53            | -0.23  | 0.4786 |
|            | Tmac08   | 26    | 8    | 3.1            | 2.56 | 0.69           | 0.68           | 0.69            | -0.00  | 0.6194 |
|            | Soc418   | 22    | 11   | 6.6            | 3.30 | 0.82           | 0.85           | 0.87            | 0.06   | 0.2265 |
|            | Tmac51   | 28    | 16   | 11.6           | 3.60 | 0.96           | 0.91           | 0.93            | -0.04  | 0.3936 |
|            | Tmac07a  | 27    | 3    | 1.9            | 1.99 | 0.44           | 0.48           | 0.49            | 0.09   | 0.4933 |
|            | Tmac03   | 28    | 3    | 1.7            | 1.85 | 0.39           | 0.42           | 0.43            | 0.08   | 0.5552 |
|            | Soc443   | 28    | 2    | 1.7            | 1.77 | 0.39           | 0.42           | 0.43            | 0.09   | 0.6714 |
|            | Tmac74   | 26    | 22   | 12.9           | 3.66 | 0.73           | 0.92           | 0.94            | 0.23   | 0.0000 |
|            | Soc423   | 28    | 6    | 3.3            | 2.66 | 0.75           | 0.70           | 0.71            | -0.05  | 0.3506 |
|            | Tmac55   | 27    | 10   | 3.8            | 2.87 | 0.67           | 0.74           | 0.75            | 0.1178 | 0.1258 |
|            | Tmac56   | 27    | 7    | 3.2            | 2.61 | 0.48           | 0.69           | 0.70            | 0.3192 | 0.0543 |
|            | Promedio | 26.28 | 8.33 | 4.46           | 2.64 | 0.64           | 0.67           | 0.68            | 0.05   | 0.0001 |
|            | Desv.Est | 2.02  | 5.34 | 3.35           | 0.63 | 0.20           | 0.19           | 0.19            | 0.15   |        |
| <b>DES</b> | Tmac25   | 2     | 3    | 2.7            | 3.00 | 1.00           | 0.63           | 0.83            | -0.33  | 1.0000 |
|            | Soc430   | 3     | 1    | 1.0            | 1.00 | 0.00           | 0.00           | 0.00            | -      | -      |
|            | Soc428   | 3     | 4    | 3.6            | 3.20 | 1.00           | 0.72           | 0.87            | -0.20  | 0.4667 |
|            | Tmac10   | 3     | 2    | 1.8            | 1.93 | 0.67           | 0.44           | 0.53            | -0.33  | 1.0000 |
|            | Tmac06   | 3     | 4    | 3.6            | 3.20 | 0.67           | 0.72           | 0.87            | 0.27   | 0.4667 |
|            | Tmac43   | 3     | 2    | 1.4            | 1.67 | 0.33           | 0.28           | 0.33            | -      | -      |
|            | Tmac44   | 3     | 4    | 3.0            | 3.00 | 0.67           | 0.67           | 0.80            | 0.20   | 0.6000 |
|            | Tmac05   | 3     | 2    | 1.4            | 1.67 | 0.33           | 0.28           | 0.33            | -      | -      |
|            | Tmac08   | 3     | 3    | 2.6            | 2.60 | 0.67           | 0.61           | 0.73            | 0.11   | 1.0000 |
|            | Soc418   | 3     | 6    | 6.0            | 4.00 | 1.00           | 0.83           | 1.00            | 0.00   | 1.0000 |
|            | Tmac51   | 3     | 5    | 4.5            | 3.60 | 1.00           | 0.78           | 0.93            | -0.09  | 1.0000 |
|            | Tmac07a  | 2     | 2    | 1.6            | 2.00 | 0.50           | 0.38           | 0.50            | -      | -      |
|            | Tmac03   | 3     | 2    | 1.8            | 1.93 | 0.67           | 0.44           | 0.53            | -0.33  | 1.0000 |
|            | Soc443   | 3     | 2    | 1.4            | 1.67 | 0.33           | 0.28           | 0.33            | -      | -      |
|            | Tmac74   | 3     | 3    | 2.6            | 2.60 | 0.67           | 0.61           | 0.73            | 0.11   | 1.0000 |
|            | Soc423   | 3     | 4    | 3.6            | 3.20 | 1.00           | 0.72           | 0.87            | -0.20  | 1.0000 |

Continúa Tabla IV...

| <b>Localidad</b>       | <b>Locus</b>     | <b><i>N</i></b> | <b><i>k</i></b> | <b><i>k<sub>e</sub></i></b> | <b><i>R</i></b> | <b><i>H<sub>o</sub></i></b> | <b><i>H<sub>e</sub></i></b> | <b><i>uH<sub>e</sub></i></b> | <b><i>F<sub>is</sub></i></b> | <b><i>p-val</i></b> |
|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------|
|                        | <b>Tmac55</b>    | 3               | 3               | 2.6                         | 2.60            | 1.00                        | 0.61                        | 0.73                         | -0.50                        | 1.0000              |
|                        | <b>Tmac56</b>    | 3               | 5               | 4.5                         | 3.60            | 0.67                        | 0.78                        | 0.93                         | 0.33                         | 0.1996              |
|                        | <b>Promedio</b>  | 2.89            | 3.17            | 2.75                        | 2.58            | 0.68                        | 0.54                        | 0.66                         | -0.07                        | 0.5494              |
|                        | <b>Desv.Est.</b> | 0.32            | 1.34            | 1.35                        | 0.83            | 0.29                        | 0.23                        | 0.27                         | 0.27                         |                     |
| <b>Promedio global</b> |                  | <b>50.16</b>    | <b>8.31</b>     | <b>4.46</b>                 | <b>2.65</b>     | <b>0.65</b>                 | <b>0.65</b>                 | <b>0.68</b>                  | <b>0.03</b>                  |                     |
| <b>DS global</b>       |                  | <b>39.78</b>    | <b>6.18</b>     | <b>3.60</b>                 | <b>0.69</b>     | <b>0.22</b>                 | <b>0.21</b>                 | <b>0.22</b>                  | <b>0.18</b>                  |                     |

Cuando se descartan los loci en desequilibrio *H-W* (*Tmac74* y *Soc430*), el valor de  $F_{is}$  por localidad se reduce y sólo ZN, SLG y RC presentan valores significativos ( $p < 0.05$ ) de  $F_{is}$ ; de estas solo RC presentó valores significativos de  $F_{is}$  después de la corrección de Bonferroni (Anexo I).

### 7.1.3 Estructura Genético Poblacional

Durante el desarrollo del trabajo de tesis, primero se llevaron a cabo los análisis de demografía–histórica y estimaciones de tamaño efectivo poblacional. En dicha evaluación se detectaron tres loci en desequilibrio de  $H-W$  (*Soc430*, *Tmac74*, y *Soc442*) los cuales fueron descartados del análisis (ver siguiente sección: 7.1.4 Demografía–histórica). Para el análisis de estructura poblacional se utilizó el mismo juego de marcadores (16 loci microsatélites) que el análisis de demografía–histórica, para evitar el sesgo de usar un juego diferente de marcadores entre estos análisis.

#### 7.1.3.1 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

Se realizaron tres tipos de agrupaciones con la finalidad de inferir si la varianza en el nivel de estructuración genética puede ser mejor explicada en términos espaciales (entre las localidades) o temporales (variación entre las diferentes cohortes). La primera explica A) el porcentaje de varianza si solamente consideramos el componente espacial, la segunda B) compara diferentes localidades pero sólo organismos de una misma cohorte, y la tercera C) entre las diferentes cohortes.

De manera general el mayor porcentaje de la varianza se encuentra explicado entre los individuos independientemente del nivel de agrupación ( $> 96\%$  de la varianza) con niveles altamente significativos de  $F_{IS}$  ( $p \leq 0.05$ ) (Tabla V). En cambio las diferencias entre poblaciones o entre grupos explican un bajo porcentaje de la varianza total ( $< 0.27\%$  de la varianza) y no presentaron valores significativos de diferenciación en ningún nivel jerárquico ya sea entre las localidades ( $F_{ST}$ ), entre localidades dentro de los grupos ( $F_{SC}$ ) o entre los grupos ( $F_{CT}$ ) independientemente de la agrupación ( $F_{ST}$ ,  $F_{SC}$  y  $F_{CT}$ ;  $p > 0.05$ ) (Tabla V). Sin embargo, cuando se consideran las cohortes (agrupación: B y C) el porcentaje de la varianza explicado entre grupos o poblaciones es un orden de magnitud mayor que el explicado solamente en términos espaciales (agrupación: A). Por lo que se procedió a realizar un análisis específico en términos espaciales con la agrupación A y otro temporal por cohortes como lo muestra la agrupación C (Tabla V).

**Tabla V.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para diferentes agrupaciones de posibles niveles de estructuración genética en tres modelos: a) espacial entre las diferentes localidades de muestreo, b) cohortes por localidad c) cohortes.

| Agrupación                              | Fuente de Variación          | %Varianza | F        | Valor    | Valor <i>p</i> |
|---|------------------------------|-----------|----------|----------|----------------|
| <b>A)Espacial por localidades</b>       | Entre poblaciones            | 0.01      | $F_{ST}$ | 0.00011  | 1.0000         |
| (ZN; RC; SSF; SLG; DES; BL)             | Dentro de poblaciones        | 2.07      | $F_{IT}$ | 0.02077  | <b>0.0036</b>  |
|   | Entre individuos             | 97.92     | $F_{IS}$ | 0.02067  | <b>0.0030</b>  |
| <b>B) Cohortes por localidad</b>        |                              |           |          |          |                |
| 2005: SLG (n=12), ZN (n=17);            | Entre grupos                 | 0.27      | $F_{CT}$ | 0.0027   | 0.1523         |
| 2006: RC (n=10), SLG (n=19), ZN (n=10); | Poblaciones dentro de grupos | -0.42     | $F_{SC}$ | -0.00419 | 0.8556         |
| 2007: RC (n=12), SLG (n=9);             | Entre individuos             | 96.82     | $F_{IS}$ | 0.03324  | <b>0.0023</b>  |
| 2008: RC (n=31), SLG (n=12);            |                              |           |          |          |                |
| <b>C) Cohortes</b>                      |                              |           |          |          |                |
| 2003 (n=22);                            | Entre poblaciones            | 0.13      | $F_{ST}$ | 0.00131  | 1.0000         |
| 2004 (n=31);                            | Dentro poblaciones           | 1.97      | $F_{IT}$ | 0.02098  | <b>0.0082</b>  |
| 2005 (n=41);                            | Entre individuos             | 97.90     | $F_{IS}$ | 0.0197   | <b>0.0116</b>  |
| 2006 (n=48);                            |                              |           |          |          |                |
| 2007 (n=27);                            |                              |           |          |          |                |
| 2008 (n=43);                            |                              |           |          |          |                |
| 2009 (n=32);                            |                              |           |          |          |                |

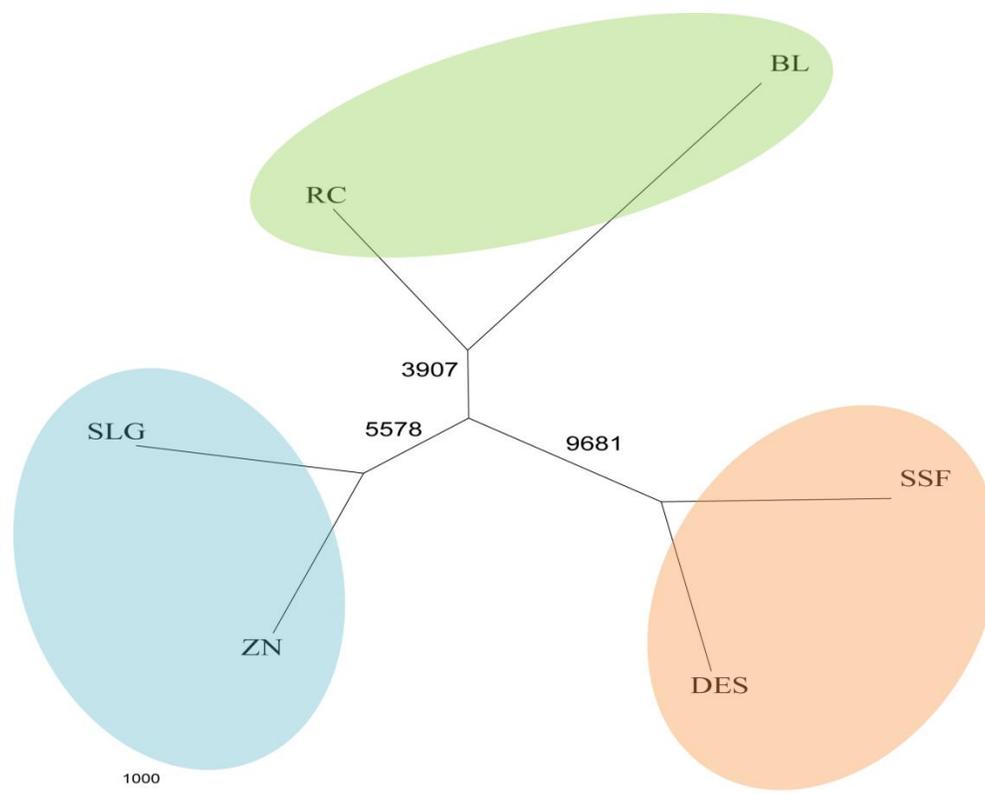
## 7.1.3.2 Análisis espacial

### 7.1.3.2.1 Árbol de distancias genéticas

El árbol de distancias genéticas muestra la similitud genética que existe entre las diferentes localidades de muestreo (Figura 3). El árbol muestra tres agrupaciones: 1) Roca Consag (RC) + Bahía de Lobos (BL); 2) San Luis Gonzaga (SLG) + Zona Núcleo (ZN); y 3) Sur de San Felipe (SSF) + Desemboque (DES). Éstas agrupaciones se encuentran pobremente soportadas en el árbol con excepción de la rama que une a SSF y DES que contó con un alto soporte (9681) (Figura 3). Las agrupaciones no cuentan con un patrón de concordancia espacial, es decir, las localidades más cercanas no se agrupan entre ellas. Por ejemplo, en la primera agrupación se encuentran localidades que se encuentran en el extremo geográfico como lo son BL y RC, pero esta agrupación no incluye localidades que se encuentran intermedias (*e.g.* SLG y DES) (Figura 2; Figura 3).

### 7.1.3.2.2 Índice de fijación de Wright (*Fst*)

El análisis de diferenciación genética basado en *Fst* no mostró niveles significativos de diferenciación genética entre ninguna de las localidades (Tabla VI). Los valores de *Fst* entre las diferentes localidades variaron de -0.0587 (SSF vs DES) a 0.0044 (SSF vs BL) (Tabla VI). Ninguna de las estimaciones fue significativamente diferente de cero, por lo tanto se acepta la hipótesis nula de homogeneidad genética entre las localidades (Tabla VI).



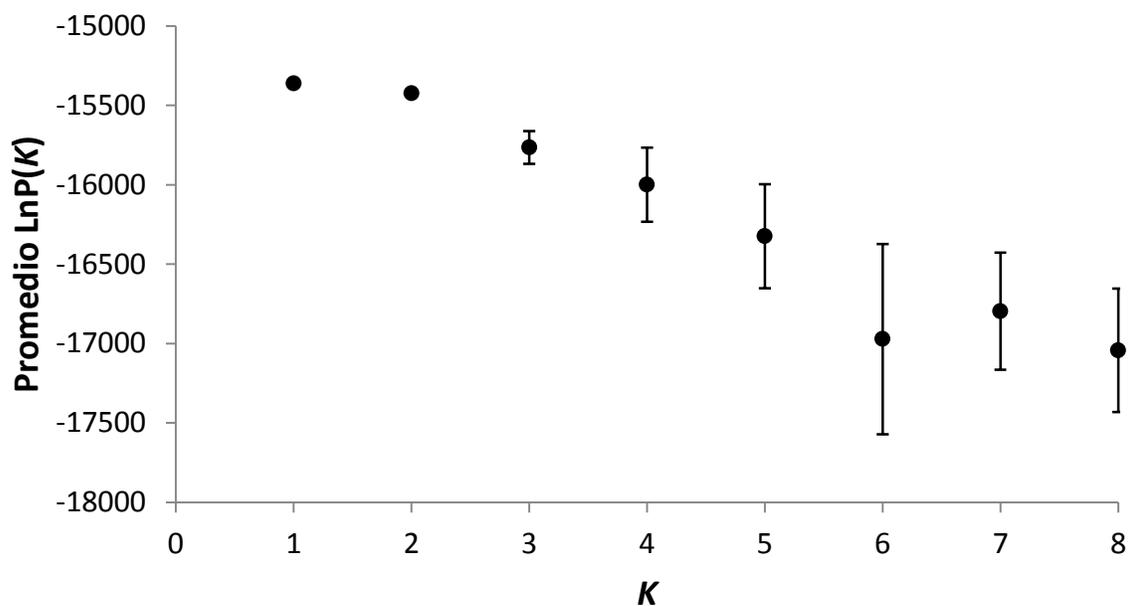
**Figura 3.** Árbol de distancias genéticas no enraizado, basado en la distancia genética ( $D_E$ ) (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) de *Totoaba macdonaldi* usando 16 loci microsatélites para las localidades muestreadas en el Golfo de California: Zona Núcleo (ZN), Roca Consag (RC), Sur de San Felipe (SSF), San Luis Gonzaga (SLG), Desemboque (DES) y Bahía de Lobos (BL). El árbol fué construido en base al método del *Neighbor-Joining*, el soporte de las ramas está basado en 10,000 réplicas. Los valores al interior de las ramas son los valores de *bootstrap*.

**Tabla VI.** Estimaciones de las comparaciones pareadas de  $F_{st}$  (Weir y Cockerham, 1984) para *Totoaba macdonaldi* mediante 16 loci microsatélites entre las diferentes localidades del Golfo de California. En la diagonal inferior de la tabla se muestran los valores de  $F_{st}$  y en la diagonal superior el nivel de significancia ( $p$ ).

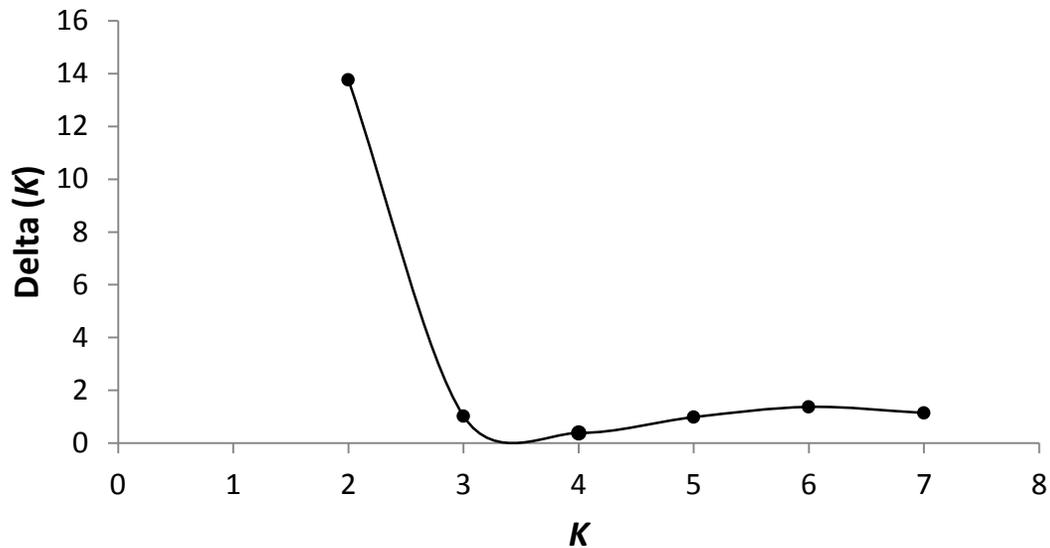
|     | ZN       | SSF     | SLG      | RC      | BL       | DES  |
|-----|----------|---------|----------|---------|----------|------|
| ZN  | 0        | 0.80    | 0.41     | 0.71    | 0.14     | 0.88 |
| SSF | -0.00608 | 0       | 0.31     | 0.37    | 0.27     | 0.99 |
| SLG | 0.00009  | 0.00165 | 0        | 0.27    | 0.08     | 0.85 |
| RC  | -0.00112 | 0.00175 | 0.00081  | 0       | 0.19     | 0.84 |
| BL  | 0.00308  | 0.00449 | 0.00408  | 0.00306 | 0        | 0.65 |
| DES | -0.02608 | -0.0487 | -0.02522 | -0.0235 | -0.01354 | 0    |

### 7.1.3.2.3 Inferencia Bayesiana

El número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) mediante el análisis de inferencia Bayesiana, estimó que la máxima probabilidad fue  $K = 1$  (Figura 4). Así mismo, el método basado en el cambio de la verosimilitud de  $K$  determinó el valor más probable de  $K = 2$  (Figura 5).



**Figura 4.** Representa el número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California con 16 loci microsatélites en base al valor promedio del logaritmo de la verosimilitud de  $K[\text{LnP}(K)]$  inferida por STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) para las diferentes localidades. Cada valor promedio de  $\text{LnP}(K)$  fue estimado a partir de 10 repeticiones de  $K$ .

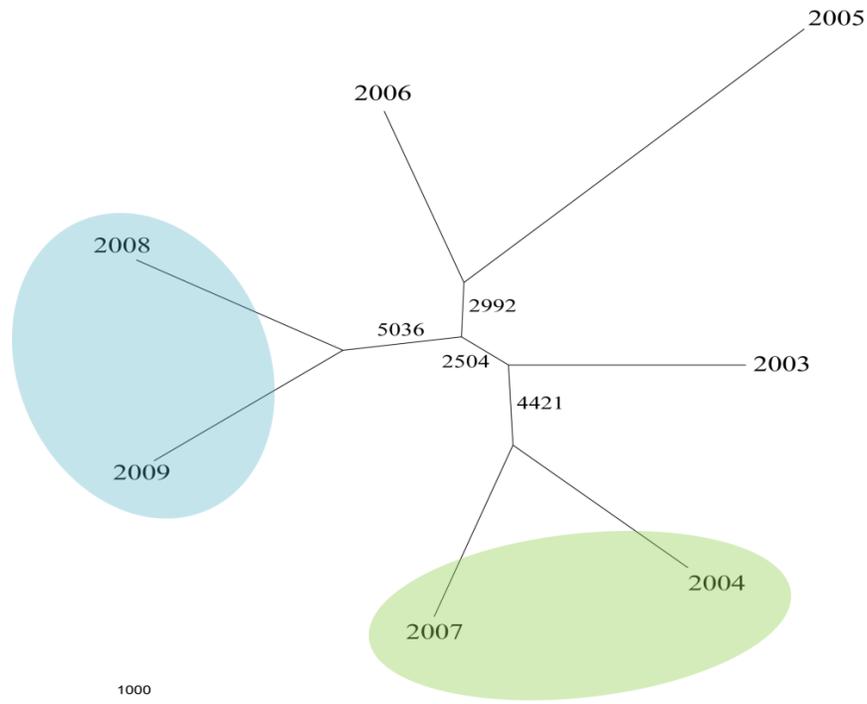


**Figura 5.** Número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California con 16 loci microsatélites en base al método del cambio de la tasa de verosimilitud ( $\Delta K$ ) para las diferentes localidades (Evanno *et al.*, 2005).

### 7.1.3.3 Análisis por cohortes

#### 7.1.3.3.1 Árbol de distancias genéticas

El árbol de distancias genéticas demuestra la similitud que existe entre las diferentes cohortes analizadas (Figura 6). Los grupos formados contaron con un bajo soporte estadístico (*bootstrap*), los cuales fueron menores al 50% (<5000). La similitud medianamente soportada fue la cohorte del 2008 con la del 2009 y en segundo término la cohorte del 2007 y 2004. Mientras que las demás cohortes cuentan con niveles de soporte muy bajos entre ellas (Figura 6).



**Figura 6.** Árbol de distancias genéticas no enraizado, basado en la distancia genética ( $D_E$ ) (Cavalli-Sforza and Edwards, 1967) para las cohortes de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California mediante 16 loci microsatélites. Se muestran las distancias entre las cohortes: de 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008 y 2009. El árbol fue construido en base al método del *Neighbor-Joining*, el soporte de las ramas está basado en 10,000 bootstrap. Los valores al interior de las ramas son los valores de *bootstrap*.

#### 7.1.3.3.2 Índice de fijación de Wright ( $F_{st}$ )

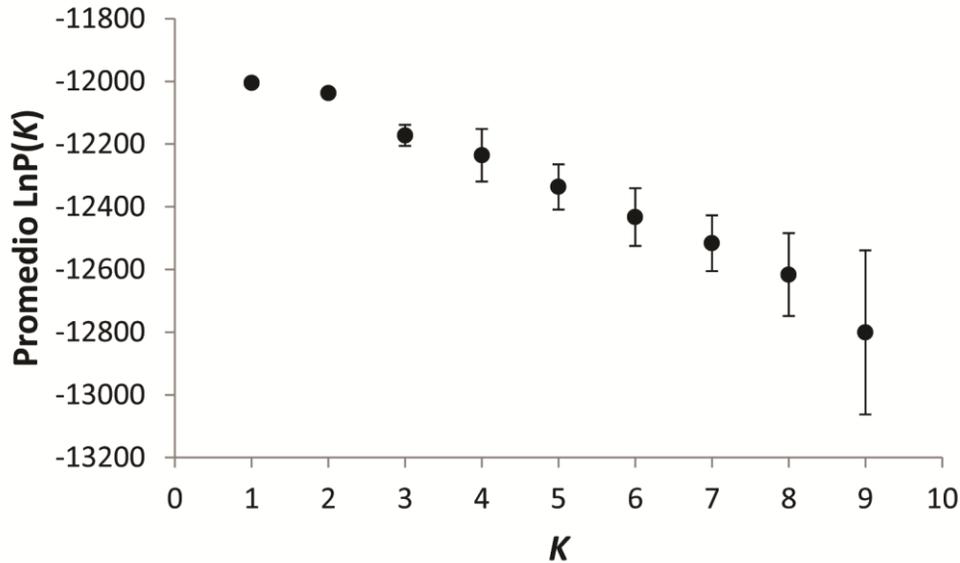
Las comparaciones pareadas entre los cohortes con  $F_{st}$  mostraron valores bajos. Las estimaciones de  $F_{st}$  se encontraron en el rango de -0.00261 a 0.00730. Solo una comparación mostró niveles significativos de diferenciación entre la cohorte de 2006 contra la del 2009 ( $p \leq 0.05$ ) (Tabla VII). Sin embargo, ninguna comparación pareada fue significativa después de aplicar la corrección de Bonferroni a nivel de  $p \leq 0.0024$  (Tabla VII).

**Tabla VII.** Estimaciones de las comparaciones pareadas de  $F_{st}$  (Weir and Cockerham, 1984) entre las diferentes cohortes de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California mediante 16 loci microsatélites. En la diagonal inferior de la tabla se muestran los valores de  $F_{st}$  y en la diagonal superior el nivel de significancia ( $p$ ). Los valores sombreados con gris representan valores significativos de  $p \leq 0.05$  y los que se encuentran en negritas son significativos después de la corrección de Bonferroni a nivel de  $p \leq 0.0024$ .

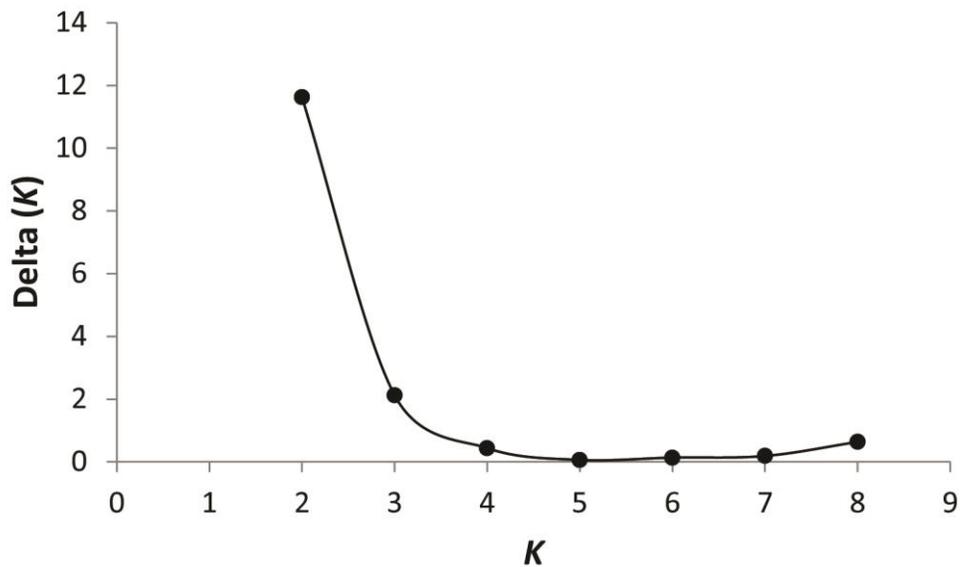
|             | <b>2009</b> | <b>2008</b> | <b>2007</b> | <b>2006</b>  | <b>2005</b> | <b>2004</b> | <b>2003</b> |
|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>2009</b> |             | 0.5389      | 0.2463      | <b>0.008</b> | 0.0618      | 0.052       | 0.0645      |
| <b>2008</b> | -0.00053    |             | 0.9014      | 0.1318       | 0.3385      | 0.4742      | 0.7442      |
| <b>2007</b> | 0.00207     | -0.00371    |             | 0.4105       | 0.5332      | 0.7686      | 0.4198      |
| <b>2006</b> | 0.00730     | 0.00247     | 0.00036     |              | 0.8378      | 0.1234      | 0.0663      |
| <b>2005</b> | 0.00455     | 0.00079     | -0.00053    | -0.0022      |             | 0.3078      | 0.4806      |
| <b>2004</b> | 0.00561     | -0.00006    | -0.00261    | 0.0031       | 0.00121     |             | 0.8296      |
| <b>2003</b> | 0.0062      | -0.00246    | 0.00052     | 0.00507      | -0.00006    | -0.00372    |             |

#### 7.1.3.3 Inferencia Bayesiana

El juego de datos analizados por cohortes contó con un resultado similar a la evaluación espacial en el análisis de inferencia Bayesiana. El número más probable de grupos genéticos en el tiempo mostró ser  $K = 1$  según el valor promedio del logaritmo de la verosimilitud implementado en STRUCTURE (Figura 7). En cuanto los valores de delta  $K$  determinó un  $K = 2$  que al igual que el análisis espacial (Figura 8).



**Figura 7.** Representa el número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) entre las cohortes de *Totoaba macdonaldi* el Golfo de California con 16 loci micrsatelites en base al valor promedio del logaritmo de la verosimilitud de  $K$  [ $\text{LnP}(K)$ ] inferida por STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) para las diferentes cohortes. Cada valor promedio de  $\text{LnP}(K)$  fue estimado a partir de 10 repeticiones.



**Figura 8.** Número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) entre las cohortes de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California, en base al método del cambio de la tasa de verosimilitud ( $\Delta K$ ) para las cohortes analizadas (Evanno *et al.*, 2005).

#### **7.1.4 Demografía–histórica**

Para el análisis de demografía–histórica y tamaño efectivo poblacional se utilizó un submuestra de 180 individuos debido a que fue el número de muestra disponible en el año 2010. Los individuos fueron recolectados en cuatro localidades: 1) Zona núcleo (n=39), 2) Roca Consag (n=66), 3) Sur de San Felipe (n=12), 4) San Luis Gonzaga 2010 (n=37); 2005 (n=26). Los datos de las diferentes localidades fueron agrupados en un solo juego de datos en este análisis. La falta de evidencia para rechazar la hipótesis de panmixia de totoaba en el Golfo de California tanto en espacio como en tiempo en el presente juego de datos generan una cierta confiabilidad en el análisis de demografía–histórica, el cual puede crear falsos cuellos botella cuando existe estructura genética poblacional.

##### **7.1.4.1. Diversidad genética de totoaba como población panmíctica**

La totoaba del Golfo de California mostró un número de alelos por locus ( $\omega$ ) de 3 a 31 con una media de 11.6; el número efectivo de alelos ( $\omega_e$ ) varió de 1.3 a 19.2 con una media de 5 mientras que la riqueza alélica ( $R$ ) se encontró en el rango de los 3 a 31 con una media de 11.5 (Tabla VIII). Los valores promedio de la heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_e$ ) fueron  $0.62 \pm 0.22$  y  $0.67 \pm 0.22$  respectivamente y el valor promedio del índice de fijación ( $F_{is}$ ) fue de  $0.08 \pm 0.19$  para todos los loci (Tabla VIII).

**Tabla VIII.** Valores de diversidad genética de totoaba del Golfo de California. Tamaño de efectivo de muestra ( $N$ ), número de alelos ( $\omega$ ), número efectivo de alelos ( $\omega_e$ ), riqueza alélica ( $R$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), índice de fijación ( $F_{is}$ ), Equilibrio de Hardy-Weinberg ( $H-W$ ) and tasa- $M$  ( $M$ ).

| <b>Locus</b>          | <b><math>N</math></b> | <b><math>\omega</math></b> | <b><math>\omega_e</math></b> | <b><math>R</math></b> | <b><math>H_o</math></b> | <b><math>H_e</math></b> | <b><math>F_{is}</math></b> | <b><math>H-W</math></b> | <b><math>M</math></b> |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------|
| <b><i>Tmac74</i></b>  | 160                   | 31                         | 19.2                         | 31.0                  | 0.70                    | 0.95                    | 0.26                       | *                       |                       |
| <b><i>Tmac56</i></b>  | 174                   | 12                         | 4.3                          | 11.6                  | 0.71                    | 0.77                    | 0.07                       | NS                      | 0.60                  |
| <b><i>Tmac55</i></b>  | 177                   | 14                         | 5.9                          | 13.8                  | 0.80                    | 0.83                    | 0.04                       | NS                      | 0.70                  |
| <b><i>Tmac51</i></b>  | 176                   | 26                         | 12.0                         | 25.8                  | 0.95                    | 0.92                    | -0.04                      | NS                      | 0.90                  |
| <b><i>Tmac44</i></b>  | 159                   | 9                          | 4.0                          | 9.0                   | 0.70                    | 0.75                    | 0.06                       | NS                      | 0.75                  |
| <b><i>Tmac43</i></b>  | 179                   | 6                          | 1.3                          | 5.9                   | 0.21                    | 0.21                    | 0.01                       | NS                      | 0.46                  |
| <b><i>Tmac25</i></b>  | 172                   | 17                         | 9.4                          | 17.0                  | 0.89                    | 0.89                    | 0.00                       | NS                      | 0.71                  |
| <b><i>Tmac10</i></b>  | 172                   | 9                          | 3.4                          | 8.8                   | 0.74                    | 0.70                    | -0.05                      | NS                      | 0.60                  |
| <b><i>Tmac08</i></b>  | 167                   | 8                          | 3.2                          | 8.0                   | 0.68                    | 0.69                    | 0.01                       | NS                      | 1.00                  |
| <b><i>Tmac07a</i></b> | 173                   | 4                          | 1.8                          | 4.0                   | 0.42                    | 0.44                    | 0.03                       | NS                      | 1.00                  |
| <b><i>Tmac06</i></b>  | 166                   | 18                         | 6.5                          | 17.9                  | 0.75                    | 0.85                    | 0.11                       | NS                      | 0.72                  |
| <b><i>Tmac05</i></b>  | 177                   | 5                          | 2.0                          | 4.9                   | 0.44                    | 0.50                    | 0.11                       | NS                      | 1.00                  |
| <b><i>Tmac03</i></b>  | 179                   | 5                          | 1.8                          | 4.9                   | 0.48                    | 0.45                    | -0.07                      | NS                      | 0.83                  |
| <b><i>Soc443</i></b>  | 172                   | 4                          | 1.8                          | 4.0                   | 0.44                    | 0.45                    | 0.02                       | NS                      | 0.57                  |
| <b><i>Soc442</i></b>  | 178                   | 3                          | 2.0                          | 3.0                   | 0.10                    | 0.50                    | 0.80                       | *                       |                       |
| <b><i>Soc430</i></b>  | 173                   | 10                         | 2.1                          | 9.7                   | 0.46                    | 0.53                    | 0.13                       | *                       |                       |
| <b><i>Soc428</i></b>  | 179                   | 8                          | 4.3                          | 8.0                   | 0.80                    | 0.77                    | -0.05                      | NS                      | 0.80                  |
| <b><i>Soc423</i></b>  | 178                   | 11                         | 2.9                          | 10.7                  | 0.66                    | 0.66                    | -0.01                      | NS                      | 0.83                  |
| <b><i>Soc418</i></b>  | 169                   | 21                         | 7.0                          | 20.9                  | 0.81                    | 0.86                    | 0.05                       | NS                      | 0.88                  |
| <b>Promedio</b>       |                       | 11.6                       | 5.0                          | 11.5                  | 0.62                    | 0.67                    | 0.08                       | NS                      | 0.77                  |

NS= Desviaciones no significativas del equilibrio de H-W. \* = Desviaciones significativas del equilibrio de  $H-W$ .

#### 7.1.4.2 Inferencia de cambios demográficos en el pasado

No se encontró evidencia significativa de exceso de heterocigosidad bajo ninguna de las combinaciones de parámetros del modelo mutacional. Asimismo, la forma de la distribución de las frecuencias alélicas fue de tipo  $L$ -shape la cual es esperada en poblaciones estables que se encuentran en equilibrio mutación-deriva (Tabla IX), es decir, que no han sufrido una pérdida significativa de diversidad genética. Tampoco se encontró evidencia de una reciente pérdida de diversidad genética mediante la prueba de la *tasa-M*, en esta el valor medio para todos los loci fue de  $M = 0.77$  (Tabla VIII). Ninguno de los métodos para detectar reducciones recientes en la diversidad genética, fueron capaces de detectar alguna reducción significativa de  $N_e$  en totoaba.

**Tabla IX.** Estadísticos para detectar exceso de heterocigosidad en *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California con la prueba de rangos de Wilcoxon con el modelo de mutación de dos fases (TPM) con tres diferentes valores de parámetros de mutaciones de un paso (SSM). También se presenta la evaluación cualitativa de la prueba *mode-shift* implementada en BOTTLENECK (Piry *et al.*, 1999).

| Prueba Wilcoxon | Valor <i>p</i> | Mode shift     |
|-----------------|----------------|----------------|
| TPM (95%)       | 0.99           | <i>L-shape</i> |
| TPM (90%)       | 0.99           |                |
| TPM (85%)       | 0.99           |                |

Por otro lado, el análisis de historia demográfica implementado en MSVAR (Beaumont, 1999; Storz y Beaumont, 2002) encontró una disminución poblacional de totoaba. El estadístico de Gelman–Rubin indicó una razonable convergencia en entre las diferentes corridas para los parámetros  $N_0 = 1.08$ ,  $N_I = 1.02$  y  $\mu = 1.01$  y una pobre convergencia para  $T_a = 1.37$ . La estimación del tamaño efectivo ancestral ( $N_1$ ) fue de 10,849 (90%IC: 2,303–51,701), mientras que el tamaño efectivo actual ( $N_0$ ) se estimó en 2,699 (90%IC: 603–11,625), lo que es aproximadamente una reducción al 25% del tamaño ancestral (Tabla X). La reducción poblacional se encuentra altamente soportada por el factor Bayes (FB)  $\gg 10$ . El tiempo transcurrido desde el inicio de la reducción poblacional ( $T_a$ ) fue estimado hace 7,413 años (90%IC: 926–72,144) (Tabla X). Por otro lado, el traslape en los intervalos de confianza entre  $N_0$  y  $N_I$  no permite descartar la posibilidad de población constante.

**Tabla X.** Demografía–histórica de largo plazo de *Totoaba macdonaldi* en el Golfo de California inferida a partir de 16 loci microsatélites. Estimaciones de densidad del actual  $N_e$  ( $N_0$ ) y del ancestral  $N_e$  ( $N_1$ ) y el tiempo transcurrido desde el inicio de la disminución poblacional en años ( $T_a$ ). Se muestran los intervalos de confianza (IC) al 90% de probabilidad.

| Parámetro | Media  | 90% IC | 90% IC |
|-----------|--------|--------|--------|
| $N_0$     | 2,669  | 603    | 11,625 |
| $N_I$     | 10,849 | 2,303  | 51,701 |
| $T_a$     | 7,413  | 926    | 72,144 |

### 7.1.5 Tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ )

Se obtuvo una alta consistencia entre las diferentes metodologías empleadas para estimar el  $N_e$  de totoaba (Tabla XI). El  $N_e$  de largo plazo con la fórmula de Nei se calculó de 1,894 a 2,046 usando diferentes tasas de mutación para microsatélites loci. El método de desequilibrio de ligamiento (LD) determinó valores similares de  $N_e = 2,759$  (IC: 697– $\infty$ ) (Tabla XI). Los métodos de inferencia Bayesiana también contaron con estimaciones equivalentes, ONESAMP estimó un  $N_e = 1,803$  (IC: 1,094–4,932) mientras que DIYABC calculó  $N_e = 2680$  (IC: 1,540–3,900) (Tabla XI). Finalmente, MSVAR estimó el  $N_e$  actual en 2669 (IC: 603–11,6250) (Tabla X).

**Tabla XI.** Estimaciones de tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) e intervalo de confianza (IC) inferido a partir de 16 loci microsatélites para totoaba.

| <b>Programa</b>    | <b>Estimador</b> | <b><math>N_e</math></b> | <b>IC</b>     |
|--------------------|------------------|-------------------------|---------------|
|                    | Nei*             | 1894                    |               |
|                    | Nei**            | 2046                    |               |
| <b>NeEstimator</b> | <i>LD</i>        | 2759                    | 697- $\infty$ |
| <b>OneSamp</b>     | <i>Bayesiano</i> | 1803                    | 1094-4932     |
| <b>DIYABC</b>      | <i>Bayesiano</i> | 2680                    | 1540-3900     |

\* $\mu = 0.00054$ , valor estimado con DIY ABC; \*\* $\mu = 0.0005$  valor promedio tomado de la literatura (Ellegren, 2000; Garza y Williamson, 2001b; Selkoe y Toonen, 2006)

## 7.2 Dinámica poblacional

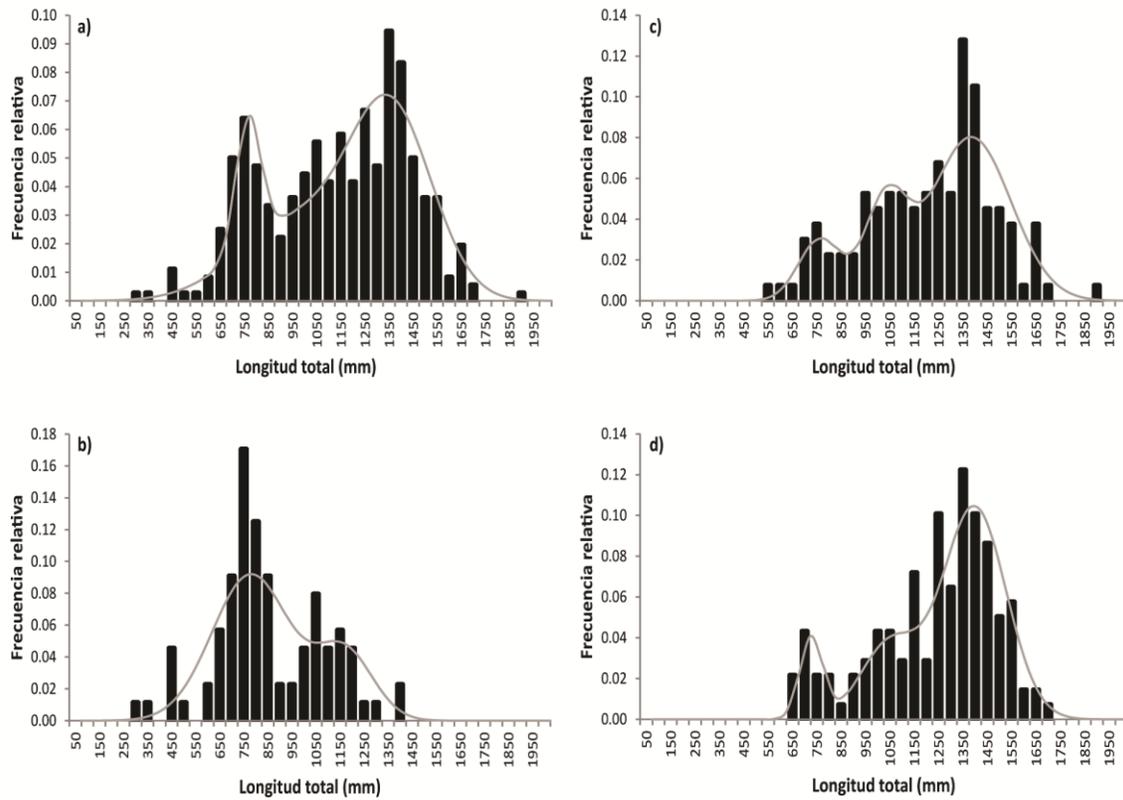
### 7.2.1 Estructura de tallas

Se obtuvieron 360 registros de longitud total (LT) de totoaba en el Golfo de California. El rango de tallas general varió desde los 280 mm a los 1860 mm de LT, y se detectan dos grandes grupos modales el primero a los  $740 \pm 51.47$  mm y el segundo a los  $1333 \pm 170.98$  mm (Figura 9a). Los organismos juveniles se encontraron en las tallas comprendidas entre los 280 mm y 1365 mm de LT, éstos presentaron dos grupos modales, uno a los  $755 \pm 161.33$  mm y otro a los  $1143 \pm 117.97$  mm (Figura 9b). Las hembras registraron tallas entre los 520 mm y 1860 mm de LT presentando tres grupos modales  $739 \pm 87.28$  mm,  $1009 \pm 87.16$  mm y  $1359 \pm 163.95$  (Figura 9c). Por otro lado, los machos registraron tallas de los 630 mm a los 1651 mm de LT y contaron con tres grupos modales similares a las hembras a los  $702.6 \pm 47.1$  mm,  $1027.9 \pm 120.6$  mm y  $1372.2 \pm 129.9$  mm de LT (Figura 9d).

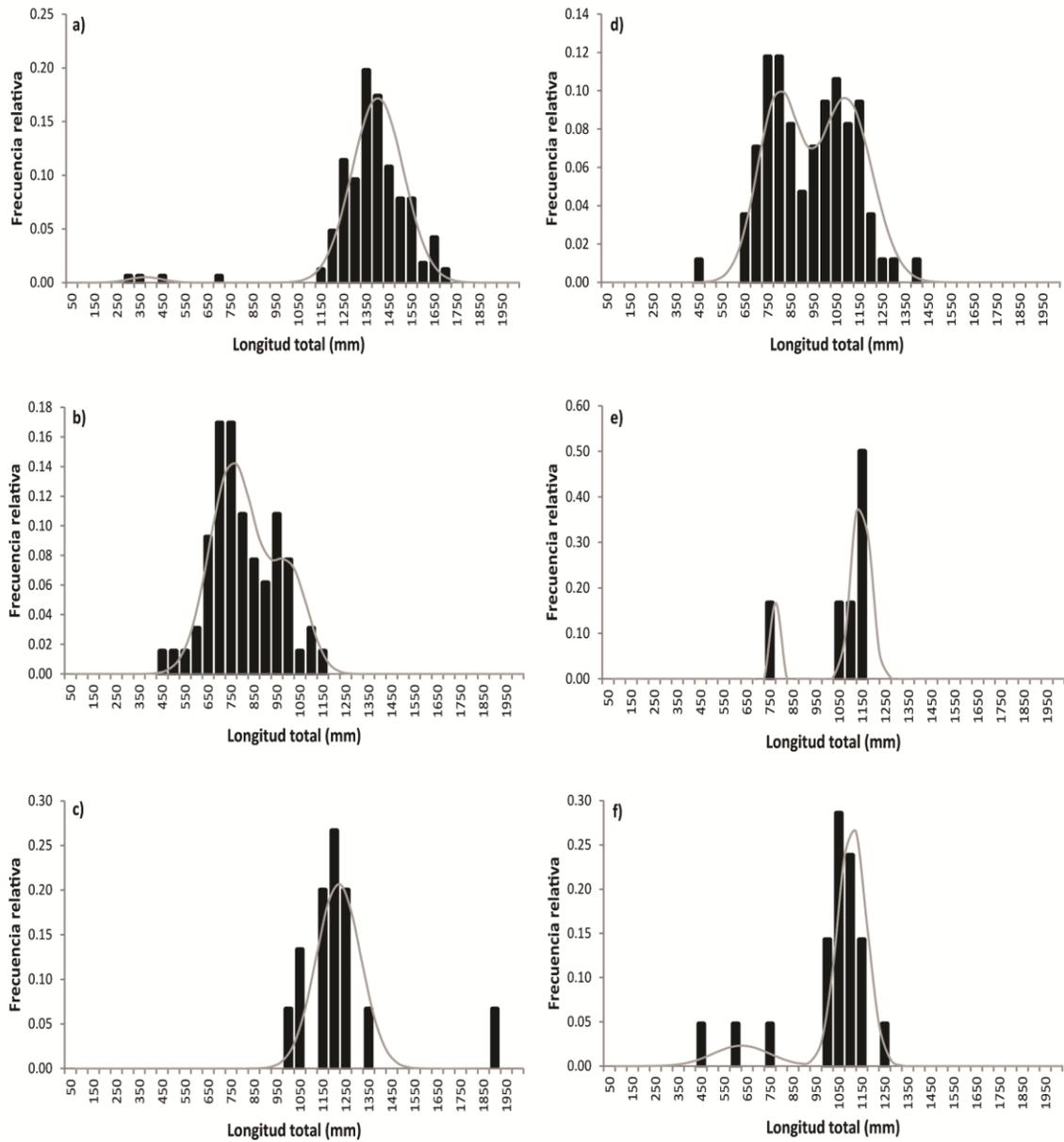
Las diferentes localidades de muestreo presentaron tallas características a lo largo de todas las campañas, las cuales son resumidas en las estructuras de tallas por localidad en la Figura 10. El grupo de organismos de mayor talla fue registrado en la Zona Núcleo de la reserva del Alto Golfo, ésta zona se encuentra dominada por un grupo modal en  $1375 \pm 113.71$  mm de LT (Figura 10a). A su vez, también en esta zona se han capturado los organismos más pequeños de manera incidental con redes camaroneras (Figura 10a). Por otro lado, Roca Consag se caracterizó por presentar organismos juveniles a lo largo de todo el periodo de muestreo, los cuales presentaron dos grupos modales a los  $732 \pm 101.36$  mm y  $981 \pm 80.23$  mm (Figura 10b). Los organismos capturados al sur de San Felipe presentaron un grupo modal a los  $1194 \pm 97.10$  mm, también se registró el organismo de mayor talla (Figura 10c). San Luis Gonzaga se caracterizó por la presencia de organismos juveniles en todas las campañas de muestreo, presentando dos grupos modales  $772 \pm 92.79$  mm y  $1066 \pm 114.65$  mm de LT muy similares a los de Roca Consag (Figura 10d).

Las localidades del lado de la costa continental del Golfo de California presentaron tallas similares entre ellas, así como las registradas en Roca Consag y San Luis Gonzaga (Figura 10e, f). En la localidad de Desemboque de los Seris con sólo cuatro organismos capturados en un solo muestreo presentó dos grupos modales, uno en  $750 \pm 7.16$  y el otro en  $1120 \pm$

40.00 mm de LT (Figura 10e). Bahía de Lobos se caracterizó por presentar dos grupos modales de organismos juveniles  $601\pm 123.36$  mm y  $1083\pm 62.36$  mm (Figura 10f).



**Figura 9.** Estructura de tallas y grupos modales de totoaba registrados en el Golfo de California. a) Estructura de tallas general, b) estructura de tallas de juveniles, c) estructura de tallas para hembras y d) estructura de tallas para machos.



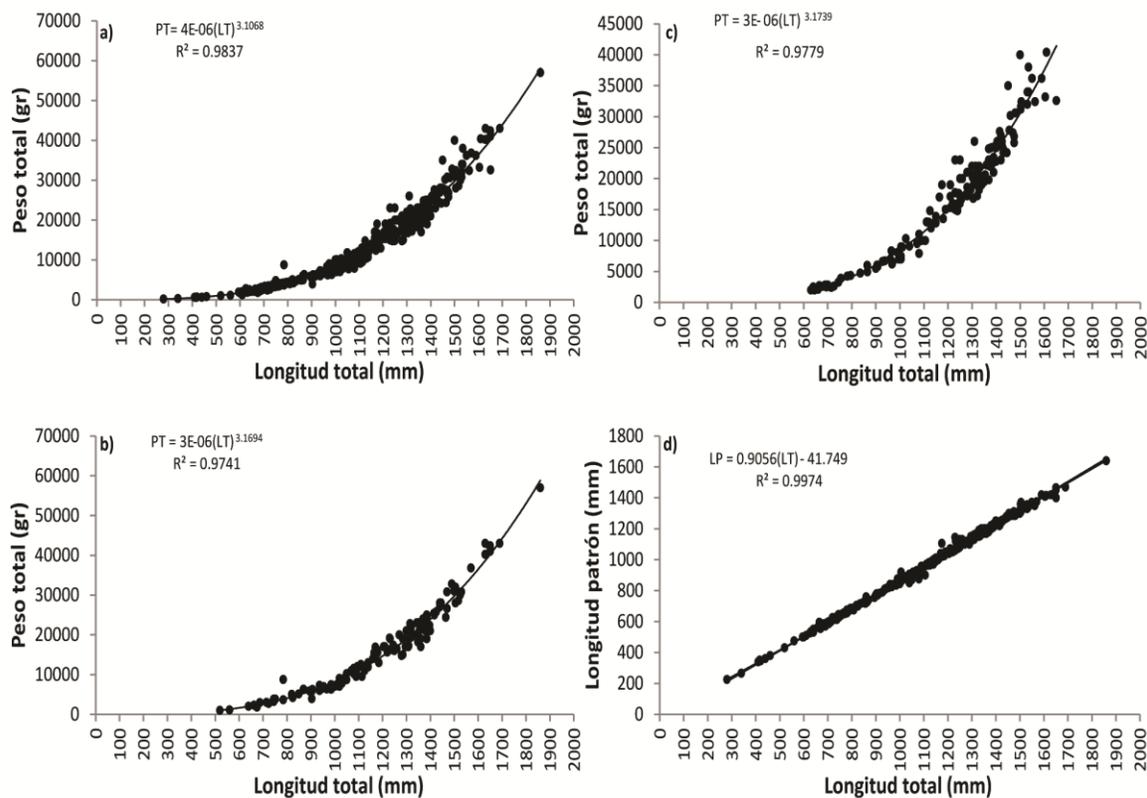
**Figura 10.** Estructura de tallas y grupos modales de totoaba registrados en diferentes localidades del Golfo de California. a) Zona núcleo, b) Roca Consag, c) sur de San Felipe, d) San Luis Gonzaga, e) Desemboque y f) Bahía de Lobos.

## 7.2.2 Parámetros poblacionales

### 7.2.2.1 Relaciones biométricas

Se determinó la relación longitud total-peso total para totoaba. Los valores de la función considerando todos los organismos se determinó un valor del intercepto  $a = 4 \times 10^{-6}$  y un valor de la pendiente  $b = 3.1068$ , así como un coeficiente de correlación de  $R = 0.9837$  (Figura 11a). En las hembras se obtuvo un valor de intercepto  $a = 3 \times 10^{-6}$ , con una pendiente  $b = 3.1694$  y un coeficiente de correlación de  $R = 0.9741$  (Figura 11b). Los machos contaron con un valor de intercepto  $a = 3 \times 10^{-6}$ , con una pendiente  $b = 3.1739$  y un coeficiente de correlación de  $R = 0.9779$  (Figura 11c).

La relación longitud total-longitud patrón para todos los organismos presentó una relación lineal con un valor de intercepto de  $a = 41.749$  y con una pendiente  $b = 0.9056$  y un coeficiente de correlación de  $R = 0.9974$  (Figura 11d).



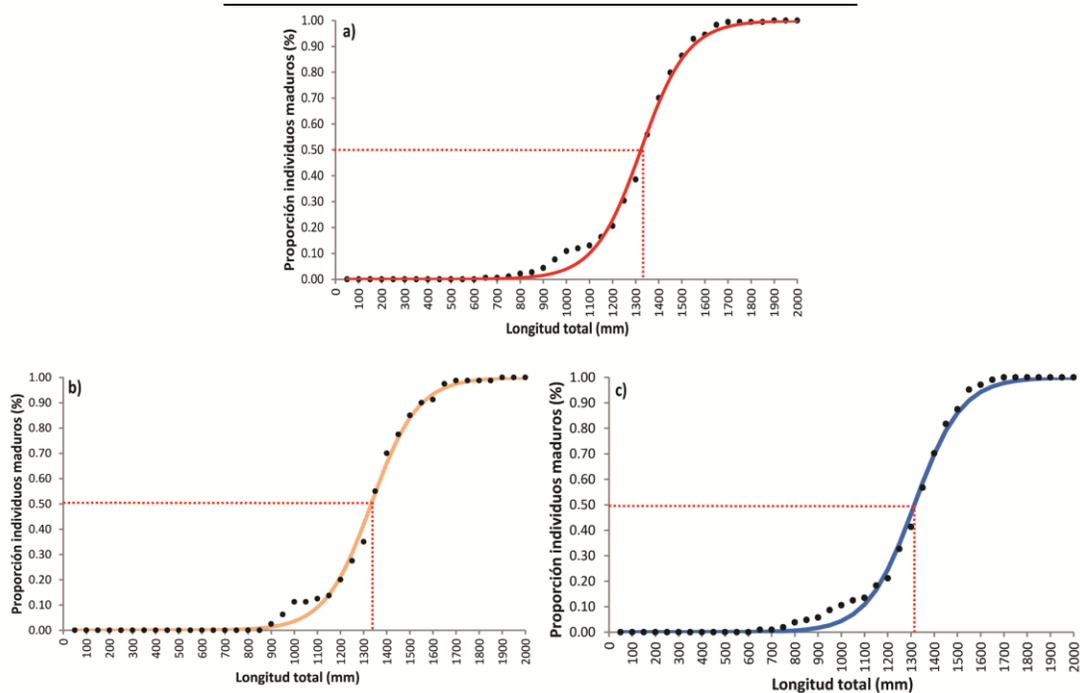
**Figura 11.** Relaciones biométricas de totoaba. a) Relación longitud total-peso total general, b) relación longitud total-peso total para hembras, b) relación longitud total-peso total para machos y d) relación longitud total-longitud patrón.

### 7.2.2.2 Talla de primera madurez

La talla de primera madurez ( $L_{mat50\%}$ ) general fue de 1322.80 mm de LT (Tabla XII; Figura 12). Para las hembras fue de 1333.31 mm LT, mientras que para los machos fue de 1314.67 mm de LT (Tabla XII; Figura 12).

**Tabla XII.** Valores de los parámetros del modelo logístico para la estimación de talla de primera madurez general, así como para hembras y machos.  $a$  = parámetro de ajuste,  $L_{mat50\%}$  = longitud a la cual el 50% de la población se encuentra madura.

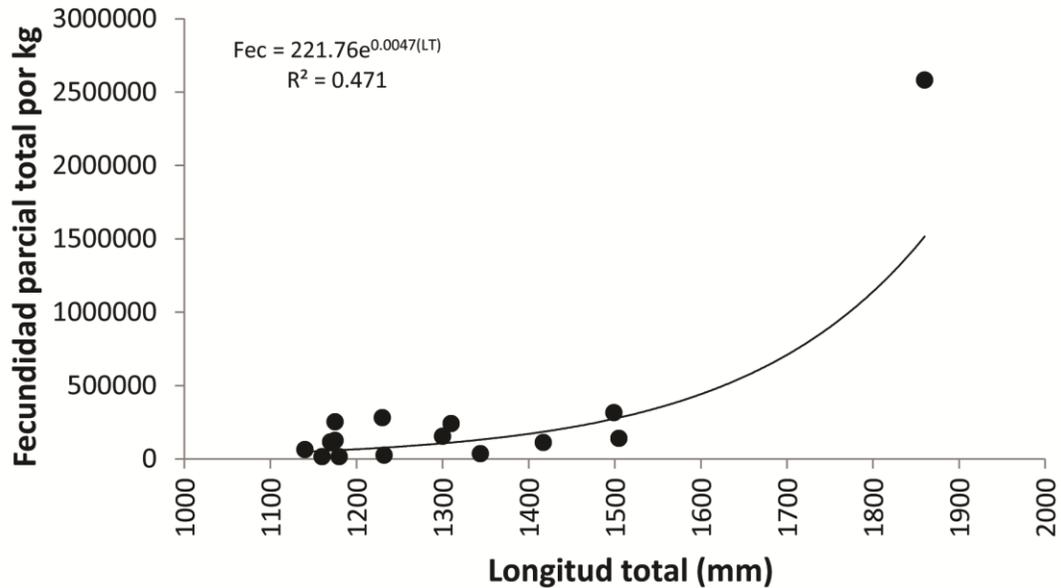
| Modelo Logístico | $a$    | $L_{mat50\%}$ |
|------------------|--------|---------------|
| General          | 0.0099 | 1322.80       |
| Hembras          | 0.0099 | 1333.31       |
| Machos           | 0.0098 | 1314.67       |



**Figura 12.** Proporción de individuos maduros en función de la talla para totoaba. Valores observados (puntos negros), proporción estimada por el modelo logístico (línea continua) y talla de primera madurez (línea roja punteada). a) talla de primera madurez general, b) talla de primera madurez para hembras y c) talla de primera madurez para machos.

### 7.2.2.3 Fecundidad

Se determinó la fecundidad parcial total por kilogramo. El valor del intercepto fue de  $a = 221.76$  y el de la pendiente  $b = 0.0047$  con un coeficiente de correlación de  $R = 0.471$  (Figura 13).



**Figura 13.** Fecundidad total parcial por kilogramo para totoaba en función de la longitud total.

### 7.2.2.3 Mortalidad

La mortalidad total ( $Z$ ) estimada a partir de la curva de captura linealizada fue de  $Z = 0.49$  (Tabla XIII). Mientras que las estimaciones de mortalidad natural ( $M$ ) se encontraron en el rango de  $M = 0.14$  a  $M = 0.22$  dependiendo del método empleado, y con un promedio de  $M = 0.19 \pm 0.03$  (Tabla XIII).

**Tabla XIII.** Estimaciones de mortalidad natural (M) mediante diferentes métodos, así como la estimación de mortalidad total (Z) mediante el método de curva de captura linealizada para totoaba en el Golfo de California.

| <b>Método</b>                 | <b>M</b><br><b>Años<sup>-1</sup></b> | <b>Z</b><br><b>Años<sup>-1</sup></b> |
|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Beberton y Holt (1959)        | 0.20                                 |                                      |
| Rickhter y Efanov (1976)      | 0.22                                 |                                      |
| Pauly(1980) (cardúmenes)      | 0.19                                 |                                      |
| Ewit&Hoeing (2005)            | 0.14                                 | 0.49                                 |
| Gislason <i>et al.</i> (2010) | 0.19                                 |                                      |
| <b>Promedio</b>               | 0.19                                 |                                      |
| <b>Desv.Est.</b>              | 0.03                                 |                                      |

#### 7.2.2.4 Selectividad

Las distribuciones de tallas por arte de pesca se ajustaron a diferentes modelos de selectividad basados en tres tipos de distribución: gamma, normal y log-normal. Los valores de los parámetros de cada tipo distribución para caña y red son mostrados en la Tabla XIV. El ajuste de los tipos de distribución con respecto a los datos observados se puede apreciar en la Figura 14, donde se muestra que todas las distribuciones mostraron un patrón unimodal similar para cada arte de pesca. La talla de primera captura ( $V_{n50\%}$ ) para cañas no varió entre los modelos con una  $V_{n50\%} = 850$  mm de LT, solo se presentaron variaciones en el rango de selectividad (Tabla XV). En el caso de la red también se contó con valores similares de  $V_{n50\%} \approx 1365$  mm de LT y rangos de selectividad entre los modelos evaluados (Tabla XV).

**Tabla XIV.** Parámetros de los diferentes modelos de selectividad para caña y red.

| Distribución | Parámetro | Arte de pesca |         |
|--------------|-----------|---------------|---------|
|              |           | Caña          | Red     |
| Gamma        | $\alpha$  | 20.49         | 117.31  |
|              | $\beta$   | 42.48         | 11.69   |
| Normal       | $\theta$  | 853.84        | 1365.24 |
|              | $\sigma$  | 193.80        | 125.40  |
| Log-normal   | $\delta$  | 6.75          | 7.22    |
|              | $s$       | 0.16          | 0.07    |

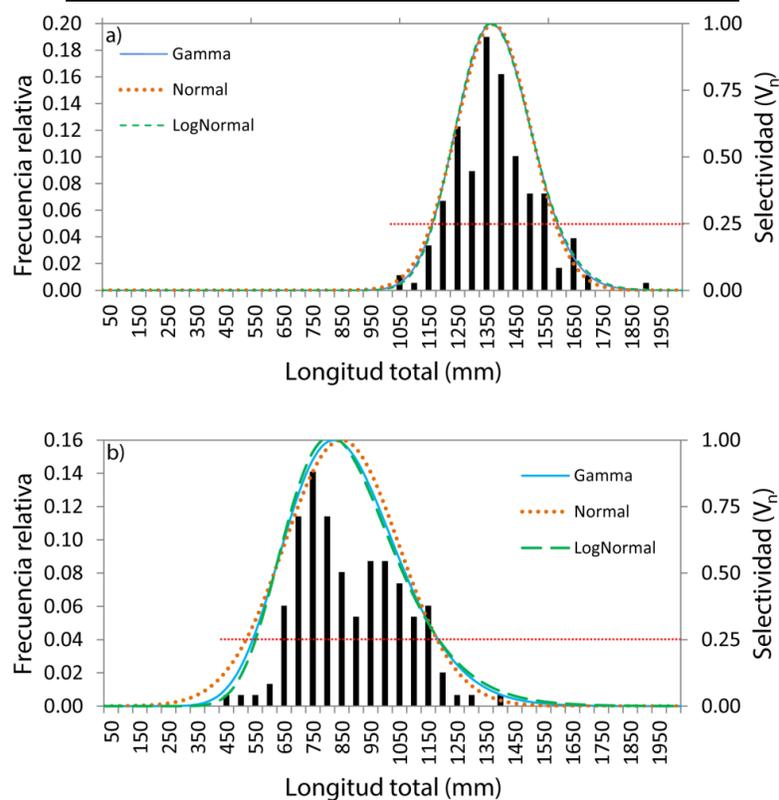


Figura 14. Estructura de tallas y probabilidad de selectividad para totoaba en base tres tipos de distribución: gamma, normal y log-normal para a) red y b) caña. La línea roja punteada marca el corte del rango de selectividad al 25% ( $V_{n25\%}$ ) y 75% ( $V_{n75\%}$ ).

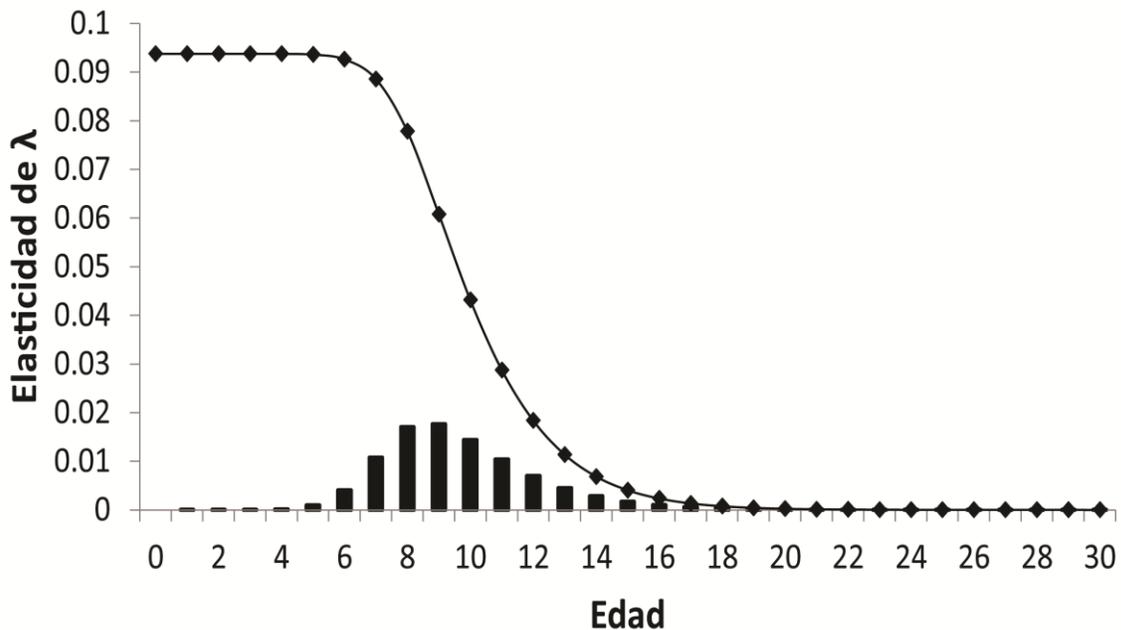
**Tabla XV.** Talla de primera captura ( $V_{n50\%}$ ) y rango de selectividad al 25% ( $V_{n25\%}$ ) y 75% ( $V_{n75\%}$ ) para totoaba en base a tres tipos de distribución para caña y red. Todos los valores son en base a la longitud total en mm.

| <b>Distribución</b> | <b>Parámetro</b> | <b>Caña</b> | <b>Red</b> |
|---------------------|------------------|-------------|------------|
| Gamma               | $V_{n50\%}$      | 850         | 1365       |
|                     | $V_{n25\%}$      | 730         | 1280       |
|                     | $V_{n75\%}$      | 990         | 1450       |
| Normal              | $V_{n50\%}$      | 850         | 1360       |
|                     | $V_{n25\%}$      | 720         | 1275       |
|                     | $V_{n75\%}$      | 980         | 1445       |
| Log-normal          | $V_{n50\%}$      | 850         | 1365       |
|                     | $V_{n25\%}$      | 725         | 1280       |
|                     | $V_{n75\%}$      | 990         | 1455       |

### 7.2.3 Análisis demográfico

#### 7.2.3.1 Elasticidad

Se determinó la elasticidad de los parámetros demográficos de supervivencia a la edad ( $S_n$ ) y de la fecundidad a la edad ( $f_n$ ) (Figura 15). En este caso la elasticidad es el cambio proporcional ante una perturbación en los elementos  $a_{i,j}$  de la matriz  $A$  con respecto al cambio proporcional en  $\lambda$ . Por lo tanto, determina los elementos que tienen un mayor efecto en  $\lambda$  al ser perturbados. El resultado del análisis de elasticidad mostró que  $S_n$  tiene mayores elasticidades que  $f_n$  (Figura 15), es decir, que cada cambio en  $S_n$  tiene un mayor impacto proporcional sobre  $\lambda$  que  $f_n$ . Dentro de las elasticidades de  $S_n$ , las edades que corresponden a organismos juveniles tiene una mayor elasticidad y ésta decrece en función de la edad (Figura 15). En cuanto a las elasticidades de la fecundidad, estas presentan un patrón de incremento hacía la edad de primera madurez y posteriormente un decremento con la edad (Figura 15).

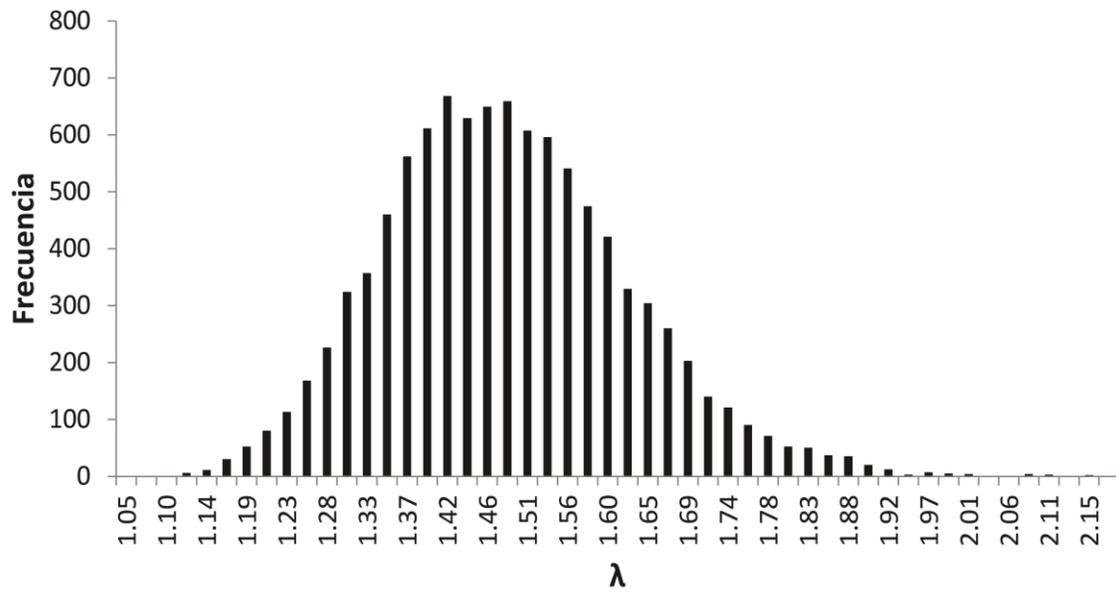


**Figura 15.** Elasticidades de  $\lambda$  para cambios en la supervivencia a la edad ( $S_n$ ) y la fecundidad a la edad ( $f_n$ ) para totoaba. Las barras representan  $f_n$  y la línea con diamantes  $S_n$ .

### 7.2.3.2 Escenarios

#### a) *Escenario nulo: sin mortalidad por pesca*

El análisis estocástico del escenario nulo, incorporando incertidumbre en los parámetros demográficos de totoaba, y asumiendo condiciones solo de mortalidad natural, es decir, excluyendo el efecto de mortalidad por pesca para determinar  $\lambda$ , se muestra en Figura 16. Los valores estimados de  $\lambda$  se encontraron en el rango de 1.03 a 2.17 con una media de  $\lambda = 1.47$  (IC90%: 1.30-1.66).



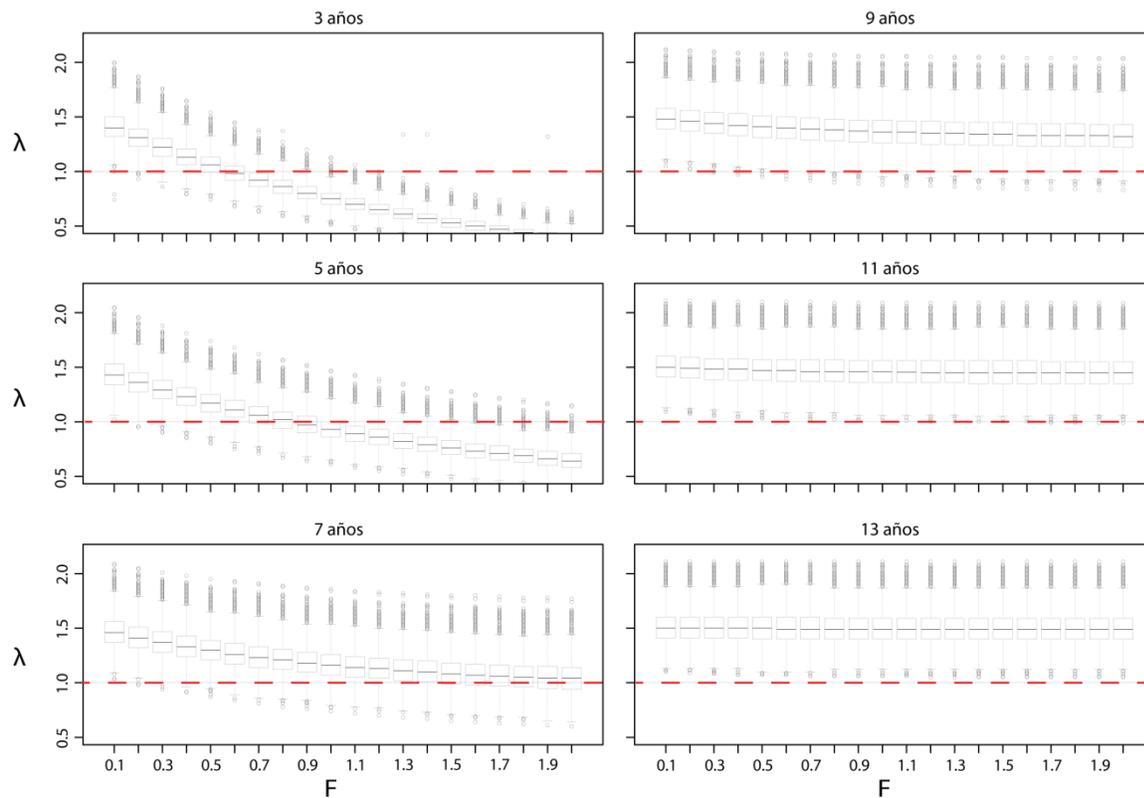
**Figura 16.** Resultados de 10,000 simulaciones del valor más probable de  $\lambda$  tomando en cuenta la incertidumbre en los parámetros de historia de vida de *Totoaba macdonaldi* asumiendo  $F = 0$ .

***b) Escenarios asumiendo mortalidad por pesca tipo filo de cuchillo***

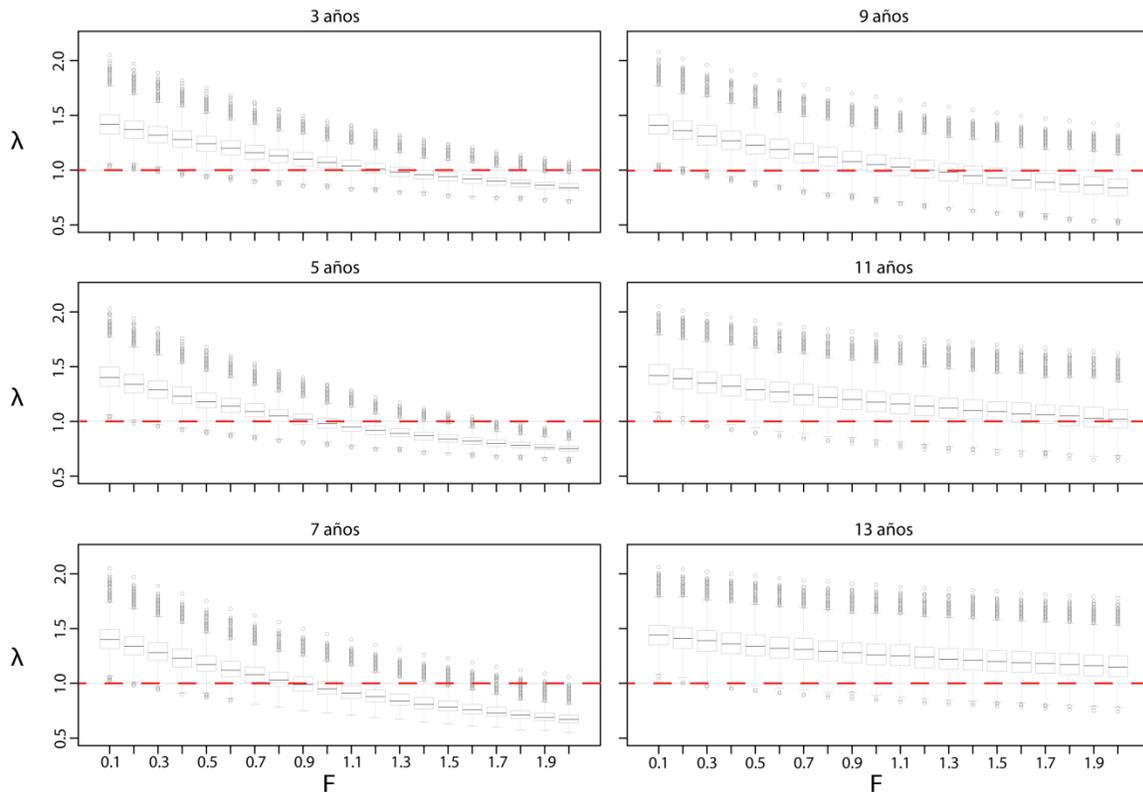
En el escenario de mortalidad por pesca (F) tipo filo de cuchillo mostró de manera general que existe una relación negativa entre  $\lambda$  y F para la mayoría de las edades de primera captura, con excepción de las edades de 11 y 13 años (Figura 17). Asimismo, se puede apreciar que la magnitud de la pendiente de esta relación, disminuye conforme se incrementa la edad de primera captura. De tal manera que, conforme se incrementa la edad de primera captura, la población soporta mayor F antes de que empiece a declinar ( $\lambda < 1$ ).

***c) Escenarios asumiendo mortalidad ponderada por la selectividad del arte de pesca***

En el escenario donde la mortalidad por pesca es ponderada en función a la selectividad del arte de pesca, mostró una relación negativa entre  $\lambda$  y F para todas las edades de primera captura (Figura 18). La pendiente de esta relación se incrementa conforme se incrementa la edad de primera captura hasta los siete años de edad. Es decir, el nivel de F que soporta la población para que empiece a declinar ( $\lambda < 1$ ), disminuye conforme se incrementa la edad de primera captura, hasta la edad de primera captura de siete años. Por otro lado, cuando la edad de primera captura es de 9, 11, y 13 años la pendiente disminuye, y por lo tanto, existe un incremento en el nivel de F para que la población empiece a disminuir con respecto a las otras edades de primera captura.



**Figura 17.** Relación entre la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) y la mortalidad por pesca ( $F$ ) a diferentes edades de primera captura (3, 5, 7, 9, 11 y 13 años) asumiendo la selectividad tipo filo de cuchillo. Cada nivel de  $F$  representa 10,000 simulaciones, la línea horizontal dentro de la caja representa a la mediana (50%). El rango inter-cuartil es el límite superior e inferior de la caja y representa los cuartiles al 25% y 75%, respectivamente. Las líneas fuera de las cajas (*Whiskers*) representan 1.5 veces el rango inter-cuartil. Los puntos fuera de los *Whisker* representan valores extremos (*outliers*). La línea roja representa el nivel crítico de  $\lambda = 1$  donde la población permanece estable.



**Figura 18.** Relación entre la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ) y la mortalidad por pesca ( $F$ ) a diferentes edades de primera captura (3, 5, 7, 9, 11 y 13 años) asumiendo la selectividad basada en una distribución normal. Cada nivel de  $F$  representa 10,000 simulaciones, la línea horizontal dentro de la caja representa a la mediana (50%). El rango inter-cuartil es el límite superior e inferior de la caja y representa los cuartiles al 25% y 75%, respectivamente. Las líneas fuera de las cajas (*Whiskers*) representan 1.5 veces el rango inter-cuartil. Los puntos fuera de los *Whisker* representan valores extremos (*outliers*). La línea roja representa el nivel crítico de  $\lambda = 1$  donde la población permanece estable.

### 7.2.3.3 Análisis de riesgo

En el escenario de mortalidad por pesca tipo filo de cuchillo, las probabilidades de sobrepasar PRL [ $P(\lambda < 1)$ ] disminuyen conforme se incrementa la edad de primera captura, y se incrementa conforme se incrementa F, esto es, conforme se incrementa la edad de primera captura la población soporta mayor F. Todas las edades de primera captura contaron con altas probabilidades de sobrepasar PRO [ $P(\lambda > 1.2)$ ] a bajos valores de F. La probabilidad de sobrepasar PRO se incrementó conforme aumenta la edad de primera captura. Es notorio que a partir de la edad de primera captura de siete años, la población puede soportar una mayor F. Finalmente, en las edades de primera captura de 9, 11, y 13 años no rebasan PRL bajo ningún nivel de F, es decir, que la población de totoaba estaría soportando altas mortalidades por pesca conforme se incrementa la edad de primera captura (Tabla XVI).

De manera general en el escenario de mortalidad por pesca ponderada por la selectividad asumiedo distribución normal, se encontró un patrón similar, donde la probabilidad de sobrepasar PRL disminuye conforme se incrementa la edad de primera captura. Las primeras edades de captura tres, cinco y siete años, presentaron probabilidades similares de sobrepasar PRL y PRO siendo, la edad de primera captura de siete años, la que presentó las probabilidades más altas de sobrepasar PRL. Las edades de primera captura posteriores a los 7 años, es decir 9, 11, y 13 años contaron con probabilidades más bajas para rebasar PRL en comparación a la edad de siete años. Al igual que en el escenario anterior al incrementar la edad de primera captura, la población es capaz de soportar una mayor F.

**Tabla XVI.** Valores de probabilidad del riesgo de sobrepasar los puntos de referencia límite (PRL) y objetivo (PRO) asumiendo mortalidad por pesca tipo filo de cuchillo a partir de diferentes edades de primera captura.

| F          | 3 Años               |                        | 5 Años               |                        | 7 Años               |                        | 9 Años               |                        | 11 Años              |                        | 13 Años              |                        |
|------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
|            | PRL<br>$\lambda < 1$ | PRO<br>$\lambda > 1.2$ |
| <b>0.1</b> | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 1.00                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.2</b> | 0.00                 | 0.87                   | 0.00                 | 0.94                   | 0.00                 | 0.97                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.3</b> | 0.02                 | 0.62                   | 0.00                 | 0.82                   | 0.00                 | 0.94                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.4</b> | 0.09                 | 0.34                   | 0.02                 | 0.65                   | 0.00                 | 0.88                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.5</b> | 0.29                 | 0.13                   | 0.06                 | 0.46                   | 0.01                 | 0.81                   | 0.00                 | 0.97                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.6</b> | 0.56                 | 0.04                   | 0.15                 | 0.29                   | 0.01                 | 0.73                   | 0.00                 | 0.96                   | 0.00                 | 0.99                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.7</b> | 0.80                 | 0.01                   | 0.28                 | 0.17                   | 0.02                 | 0.66                   | 0.00                 | 0.95                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.8</b> | 0.93                 | 0.00                   | 0.45                 | 0.09                   | 0.04                 | 0.58                   | 0.00                 | 0.94                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>0.9</b> | 0.98                 | 0.00                   | 0.60                 | 0.04                   | 0.07                 | 0.51                   | 0.00                 | 0.93                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1</b>   | 1.00                 | 0.00                   | 0.74                 | 0.02                   | 0.09                 | 0.46                   | 0.00                 | 0.92                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.1</b> | 1.00                 | 0.00                   | 0.83                 | 0.01                   | 0.13                 | 0.40                   | 0.00                 | 0.91                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.2</b> | 1.00                 | 0.00                   | 0.90                 | 0.01                   | 0.17                 | 0.35                   | 0.00                 | 0.90                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.3</b> | 1.00                 | 0.00                   | 0.95                 | 0.00                   | 0.20                 | 0.31                   | 0.00                 | 0.89                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.4</b> | 1.00                 | 0.00                   | 0.97                 | 0.00                   | 0.24                 | 0.28                   | 0.00                 | 0.88                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.5</b> | 1.00                 | 0.00                   | 0.98                 | 0.00                   | 0.27                 | 0.26                   | 0.00                 | 0.87                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.6</b> | 1.00                 | 0.00                   | 0.99                 | 0.00                   | 0.30                 | 0.24                   | 0.01                 | 0.87                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.7</b> | 1.00                 | 0.00                   | 0.99                 | 0.00                   | 0.33                 | 0.21                   | 0.01                 | 0.86                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.8</b> | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.35                 | 0.20                   | 0.01                 | 0.85                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>1.9</b> | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.38                 | 0.18                   | 0.01                 | 0.85                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |
| <b>2</b>   | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.40                 | 0.18                   | 0.01                 | 0.84                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.99                   |

**Tabla XVII.** Valores de probabilidad del riesgo de sobrepasar los puntos de referencia límite (PRL) y objetivo (PRO) asumiendo mortalidad por pesca variable en función de la selectividad del arte de pesca a partir de una distribución normal, a diferentes edades de primera captura.

| F          | 3 Años               |                        | 5 Años               |                        | 7 Años               |                        | 9 Años               |                        | 11 Años              |                        | 13 Años              |                        |
|------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
|            | PRL<br>$\lambda < 1$ | PRO<br>$\lambda > 1.2$ |
| <b>0.1</b> | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.97                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.98                   | 0.00                 | 0.98                   |
| <b>0.2</b> | 0.00                 | 0.96                   | 0.00                 | 0.93                   | 0.00                 | 0.92                   | 0.00                 | 0.93                   | 0.00                 | 0.95                   | 0.00                 | 0.97                   |
| <b>0.3</b> | 0.00                 | 0.91                   | 0.00                 | 0.84                   | 0.00                 | 0.82                   | 0.00                 | 0.86                   | 0.00                 | 0.91                   | 0.00                 | 0.95                   |
| <b>0.4</b> | 0.00                 | 0.83                   | 0.00                 | 0.84                   | 0.00                 | 0.82                   | 0.01                 | 0.77                   | 0.00                 | 0.86                   | 0.00                 | 0.92                   |
| <b>0.5</b> | 0.00                 | 0.72                   | 0.00                 | 0.70                   | 0.03                 | 0.48                   | 0.02                 | 0.64                   | 0.01                 | 0.81                   | 0.00                 | 0.89                   |
| <b>0.6</b> | 0.01                 | 0.58                   | 0.01                 | 0.52                   | 0.10                 | 0.31                   | 0.05                 | 0.52                   | 0.01                 | 0.74                   | 0.00                 | 0.86                   |
| <b>0.7</b> | 0.02                 | 0.43                   | 0.05                 | 0.33                   | 0.20                 | 0.18                   | 0.09                 | 0.41                   | 0.02                 | 0.68                   | 0.01                 | 0.83                   |
| <b>0.8</b> | 0.05                 | 0.29                   | 0.12                 | 0.19                   | 0.37                 | 0.10                   | 0.16                 | 0.31                   | 0.04                 | 0.61                   | 0.01                 | 0.80                   |
| <b>0.9</b> | 0.10                 | 0.18                   | 0.24                 | 0.09                   | 0.54                 | 0.05                   | 0.23                 | 0.23                   | 0.06                 | 0.55                   | 0.01                 | 0.76                   |
| <b>1</b>   | 0.18                 | 0.10                   | 0.41                 | 0.04                   | 0.69                 | 0.02                   | 0.32                 | 0.17                   | 0.08                 | 0.49                   | 0.02                 | 0.72                   |
| <b>1.1</b> | 0.30                 | 0.05                   | 0.60                 | 0.01                   | 0.82                 | 0.01                   | 0.41                 | 0.12                   | 0.11                 | 0.43                   | 0.02                 | 0.69                   |
| <b>1.2</b> | 0.45                 | 0.02                   | 0.77                 | 0.00                   | 0.90                 | 0.00                   | 0.50                 | 0.09                   | 0.14                 | 0.38                   | 0.03                 | 0.66                   |
| <b>1.3</b> | 0.59                 | 0.01                   | 0.88                 | 0.00                   | 0.95                 | 0.00                   | 0.58                 | 0.07                   | 0.17                 | 0.33                   | 0.04                 | 0.62                   |
| <b>1.4</b> | 0.73                 | 0.00                   | 0.95                 | 0.00                   | 0.97                 | 0.00                   | 0.65                 | 0.05                   | 0.20                 | 0.29                   | 0.05                 | 0.59                   |
| <b>1.5</b> | 0.83                 | 0.00                   | 0.98                 | 0.00                   | 0.99                 | 0.00                   | 0.71                 | 0.04                   | 0.24                 | 0.26                   | 0.06                 | 0.56                   |
| <b>1.6</b> | 0.91                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.99                 | 0.00                   | 0.76                 | 0.03                   | 0.28                 | 0.22                   | 0.07                 | 0.53                   |
| <b>1.7</b> | 0.95                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.81                 | 0.02                   | 0.32                 | 0.19                   | 0.09                 | 0.50                   |
| <b>1.8</b> | 0.98                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.85                 | 0.01                   | 0.36                 | 0.17                   | 0.10                 | 0.47                   |
| <b>1.9</b> | 0.99                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.88                 | 0.01                   | 0.40                 | 0.15                   | 0.11                 | 0.44                   |
| <b>2</b>   | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 1.00                 | 0.00                   | 0.90                 | 0.01                   | 0.43                 | 0.13                   | 0.13                 | 0.42                   |

## 7. DISCUSIÓN

A continuación se discuten los resultados principales del trabajo de investigación en tres secciones. En la primera, se abordan los aspectos que corresponden a genética de poblaciones, la cual incluye los apartados de diversidad genética, estructura poblacional, demografía histórica y tamaño efectivo poblacional. En segunda instancia, los resultados de dinámica poblacional, en particular, la estructura de tallas, fecundidad, mortalidad y selectividad. Asimismo, los resultados del modelo demográfico y el análisis de riesgo. Finalmente, se integra toda la información anterior para discutir el estado de conservación de totoaba.

### 7.1 Datos genéticos

#### 7.1.2 Diversidad genética

Recientemente, se ha demostrado que las especies en peligro de extinción presentan valores de diversidad genética menores, en comparación con las especies cercanas filogenéticamente y que no se encuentran en peligro de extinción (Spielman *et al.*, 2004). Cuando se comparan los niveles de diversidad genética de totoaba con los valores promedio de la familia Sciaenidae para loci microsatélites, el número de alelos por locus de totoaba se encuentra ligeramente por arriba al promedio de la familia, sin embargo los valores de heterocigosidad observada y esperada se encuentran ligeramente por debajo del promedio de la familia (Tabla XVIII). Además, los niveles de diversidad genética en peces incrementa de peces de agua dulce a anádromos y de estos a peces marinos (DeWoody y Avise, 2000). La totoaba, muestra mayores valores al promedio reportado para loci microsatélites en peces de agua dulce, similar al promedio el reportado para peces anádromos, pero inferior al nivel promedio para especies marinas (Tabla XVIII).

En la literatura se reconoce a la totoaba como organismo anádromo, debido a que se le ha relacionado con sus hábitos de desove y crianza con el flujo de aguas proveniente del Río Colorado hacia el delta (Berdegué, 1955; Flanagan y Hendrickson, 1976; Rowell *et al.*, 2008a). Tras el cese del flujo de Río Colorado, el estuario se perdió y generó condiciones antiestuarinas, es decir, con salinidades superiores a la del agua del mar (>35 ups) (Lavín *et al.*, 1998; Lavín y Sánchez, 1999; Valdez-Muñoz *et al.*, 2010; Valenzuela-Quiñonez *et al.*,

2011), esto hallazgos fueron interpretados como un factor de riesgo para la sobrevivencia de la totoaba, no obstante, investigaciones recientes ha demostrado que esta relación no es causal y a pesar de las condiciones antiestuarinas, esta especie continúa reproduciéndose en el delta del Río Colorado (Valdez-Muñoz *et al.*, 2010) y en condiciones de cautiverio la totoaba soporta salinidades de 35 ups (Ortíz-Viveros, 1999). De acuerdo a las anteriores observaciones, es claro que la totoaba no parece haber sufrido una reducción en la variabilidad genética, como consecuencia de la pérdida del hábitat disponible.

**Tabla XVIII.** Diversidad genética para loci microsatélites en especies de peces de la familia Sciaenidae. Valores promedio para todos los loci en todas las poblaciones. Número de loci (#Loci), número de alelos ( $k$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ).

| Especie                             | #Loci | $k$        | $H_o$     | $H_e$     | Referencia                       |
|-------------------------------------|-------|------------|-----------|-----------|----------------------------------|
| <i>Totoaba macdonaldi</i>           | 19    | 11.79      | 0.62      | 0.67      | Presente estudio                 |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> (M-E)    | 100   | 12±5.8     | 0.78±0.21 | 0.80±0.20 | (Karlsson <i>et al.</i> , 2008)  |
| <i>Sciaenop socellatus</i> (M-E)    | 38    | 6.35±2.3   | 0.71±0.22 | 0.8±0.31  | (O'Malley <i>et al.</i> , 2003)  |
| <i>Cynoscion nebulosus</i> (E)      | 6     | 15.17±11.9 |           | 0.59±.20  | (Anderson y Karel, 2010)         |
| <i>Cynoscion nebulosus</i> (E)      | 20    | 9.52±6.3   | 0.64±0.19 | 0.7±.20   | (Blandon <i>et al.</i> , 2011)   |
| <i>Cynoscion regalis</i> (E)        | 4     | 7.9±8.91   |           | 0.52±.38  | (Cordes y Graves, 2003)          |
| <i>Cynoscion aocupa</i> (E)         | 17    | 5.88±2.35  | 0.57±0.19 | 0.69±0.15 | (Farias <i>et al.</i> , 2006)    |
| <i>Larimichthys polyactis</i> (M)   | 13    | 5.69±2.69  | 0.68±0.21 | 0.67±0.18 | (Ma <i>et al.</i> , 2011)        |
| <i>Larimichthys polyactis</i> (M)   | 12    | 14.25±6.84 | 0.79±0.19 | 0.80±0.14 | (Li <i>et al.</i> , 2006)        |
| <i>Argyrosomus japonicus</i> (M-E)  | 15    | 9.4±4.48   | 0.79±0.26 | 0.75±0.16 | (Archangi <i>et al.</i> , 2009)  |
| <i>Argyrosomus japonicus</i> (M-E)  | 15    | 9.3±2.29   | 0.81±0.23 | 0.82±0.10 | (Archangi <i>et al.</i> , 2009)  |
| <i>Atractoscion aequidens</i> (M-E) | 12    | 17.7±8.2   | 0.76±0.26 | 0.82±0.26 | (Henriques <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Micropogonias furnieri</i> (M-E) | 7     | 19.71±11.2 | 0.67±0.20 | 0.75±0.18 | (D'Anatro <i>et al.</i> , 2011)  |
| <i>Nibea albiflora</i> (M)          | 13    | 6.23±2.83  | 0.59±0.27 | 0.61±0.24 | (Xing <i>et al.</i> , 2009)      |
| Promedio familia Sciaenidae         |       | 10.70±4.51 | 0.71±0.08 | 0.72±0.09 |                                  |
| Peces de agua dulce                 | 75    | 9.1±6.1    |           | 0.54±0.25 | (DeWoody y Avise, 2000)          |
| Peces anádromos                     | 43    | 10.8±7.2   |           | 0.68±0.12 | (DeWoody y Avise, 2000)          |
| Peces marinos                       | 66    | 19.9±6.6   |           | 0.77±0.19 | (DeWoody y Avise, 2000)          |

M = Marino; E = Estuarino

### 7.1.3 Estructura genética

Los resultados obtenidos en la presente investigación mediante AMOVA,  $F_{st}$ , distancias genéticas, e inferencia Bayesiana no permitieron rechazar la hipótesis de panmixia de totoaba en el área muestreada del Golfo de California.

La presencia de loci en desequilibrio de Hardy–Weinberg con valores significativos de  $F_{is}$  (déficit de heterocigotos) al interior de las localidades podría sugerir la presencia de algún tipo de estructura críptica poblacional. Al realizar un test global por localidad usando los 18 loci microsatélites, prácticamente todas las localidades presentaron valores significativos de  $F_{is}$  incluso después de la corrección de Bonferroni (Tabla IV). Sin embargo, al usar sólo 16 loci microsatélites tras excluir los loci *Tmac74* y *Soc430* sólo Zona Núcleo, San Luis Gonzaga y Roca Consag contaron con valores significativos de  $F_{is}$  ( $p < 0.05$ ) (Anexo I). De éstas, Roca Consag contó con valores significativos de  $F_{is}$  después de la corrección de Bonferroni (Anexo I). La presencia de valores significativos de déficit de heterocigotos al interior de las localidades, puede ser explicada por varias causas como lo son la posible presencia de alelos nulos, apareamiento no al azar, varianza en el éxito reproductivo, efecto Wahlund (mezcla de individuos dos poblaciones diferentes).

La prueba que evalúa el porcentaje de alelos nulos sólo detectó un alto porcentaje de alelos (>20%) nulos en el locus *Soc442* y niveles moderados en los loci (0.05–0.20%) en los loci *Tmac74*, *Soc430* y *Tmac56* (Chapuis y Estoup, 2007). Se excluyeron los loci *Soc442*, *Tmac74* y *Soc430* de la evaluación de estructura poblacional y sólo se utilizaron los 16 loci microsatélites utilizados en primera instancia en la evaluación de demografía–histórica. La exclusión de estos loci, permitió descartar el impacto de alelos nulos en el déficit de heterocigotos observado al interior de las localidades. Otra posibilidad para explicar los  $F_{is}$  altos, es que la reproducción entre individuos semejantes (homogamia positiva) es más importante que la que se esperaría por simple azar, existen observaciones en peces marinos donde la conducta sexual ha sido invocada para explicar el déficit de heterocigotos pero esta posibilidad es muy difícil de ser evaluada en el medio silvestre (Hoarau *et al.*, 2005).

Los peces altamente fecundos que presentan alta mortalidad en los primeros estadios de vida genera una alta varianza en el éxito reproductivo, esto es conocido como la hipótesis

del éxito reproductivo o efecto *Hedgecock* (Hedgecock, 1994). Esta hipótesis ha sido sugerida como una explicación para la variación en las frecuencias alélicas mostradas entre clases anuales en algunas especies, lo que puede crear estructura temporal, es decir, puede crear grupos genéticamente diferentes entre las diferentes clases anuales (Hedgecock, 1994; Ruzzante *et al.*, 1996; Chapman *et al.*, 2002).

En el presente estudio no se encontró diferencias significativas a nivel de  $F_{st}$  en términos espaciales. Sin embargo, al realizar el análisis por cohortes, los valores de  $F_{st}$  se incrementaron, mostrando una mayor diferenciación entre las cohortes. Asimismo, AMOVA mostró que existe una mayor varianza al interior de los grupos de edad que entre las localidades. Posiblemente, la mezcla de diferentes clases de edad ligeramente diferenciadas causadas por variación en el éxito reproductivo, provoca un déficit de heterocigotos en el espacio, en localidades donde convergen varias cohortes al mismo tiempo (efecto Wahlund) (Ruzzante *et al.*, 1996; Zarraindia *et al.*, 2009). Otra posibilidad es que el número de muestra por localidad no haya sido suficiente como para estabilizar las frecuencias alélicas, sin embargo, las localidades que se encontraron en desequilibrio de  $H-W$  fueron las que contaban con los números de muestra más elevados (ZN, SLG y RC) lo que refuerza la hipótesis de éxito reproductivo como posible explicación para los valores significativos de  $F_{is}$  al interior de las localidades.

Existen limitaciones metodológicas en la determinación de estructura poblacional. Por ejemplo, en el caso de la metodología de inferencia Bayesiana implementada en STRUCTURE determinó que el número más probable de grupos genéticos ( $K$ ) fue  $K = 1$ . Mientras que el método de  $\Delta K$  (Evanno *et al.*, 2005) determinó  $K = 2$ . Estudios de simulación han mostrado que STRUCTURE, no es capaz de detectar niveles sutiles de división poblacional cuando los valores de  $F_{st} \leq 0.02$  (Latch *et al.*, 2006). En este estudio, el máximo valor de  $F_{st}$  en términos espaciales fue  $F_{st} = 0.00449$  (SSF vs BL) y entre las cohortes de 0.0073 (2006 vs 2009), los cuales, se encuentran un orden de magnitud por debajo, del nivel donde, el método puede resolver algún tipo de estructura poblacional. Por lo tanto, se podría aceptar la hipótesis nula (panmixia) siendo falsa. Por otro lado, el método de  $\Delta K$  fue el único de todos los métodos probados, que resolvió más de un grupo genético. Si bien, éste último tiene una mayor capacidad de resolver el verdadero  $K$ , en

comparación a STRUTURE, se recomienda que no sea tomado de manera exclusiva debido a que el método  $\Delta K$  “no puede encontrar el mejor  $K$  cuando  $K = 1$ ” (Evanno *et al.*, 2005; Pagina 2618). Por lo tanto, la hipótesis de panmixia solo puede ser aceptada parcialmente.

Es importante mencionar que la determinación errónea de unidades poblacionales trae consigo serias consecuencias para su manejo (Hilborn *et al.*, 2003; Palsbøll *et al.*, 2007; Hutchinson, 2008). Por ejemplo cuando se considera una población genéticamente homogénea la cual cuenta con dos unidades de manejo distintas, las evaluaciones de abundancia, parámetros poblacionales pueden provocar evaluaciones erróneas del estado de la población (Roy *et al.*, 2012). Asimismo, en el caso inverso de contar con poblaciones discretas las cuales son manejadas como una sola puede incrementar el riesgo de extinción, en las poblaciones menos productivas o la pérdida diversidad genética de adaptaciones locales donde los organismos presentan características adaptativas únicas a un medio ambiente específico (Hilborn *et al.*, 2003; Hutchinson, 2008; Therkildsen *et al.*, 2013).

No obstante, existen evidencias complementarias que no pueden ser ignoradas, las cuales permiten sugerir la existencia de una sola población. Sólo se tienen registros de una sola zona de desove y crianza en el Golfo de California en la zona adyacente al delta del Río Colorado, no se ha detectado la presencia de hembras maduras en zonas alternas al Alto Golfo, los juveniles de menor tamaño se encuentran en la misma zona, la presencia de totoaba solo es temporal en el sur de su distribución y se cuenta con evidencia indirecta de un movimiento filopátrico hacía la zona de desove y crianza (Arvizu y Chávez, 1972; Flanagan y Hendrickson, 1976; Barrera-Guevara, 1990; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Cisneros-Mata *et al.*, 1997; Valdez-Muñoz *et al.*, 2010; Bobadilla *et al.*, 2011; Valenzuela-Quñonez *et al.*, 2011). Actualmente, se cuenta con una buena cobertura espacial por la parte continental, y una reducida cobertura por el lado de la península, por lo que se requiere incrementar la cobertura y número de muestras a la largo de su distribución, para contar con una evaluación más robusta de la estructura poblacional de totoaba. A pesar de estas limitantes, en el actual estado del conocimiento y con los resultados parciales de estructura poblacional de la presente investigación, se puede concluir que la hipótesis más parsimoniosa es que totoaba se encuentra constituida como una unidad panmíctica en el Golfo de California.

#### 7.1.4 Demografía–histórica

Otra hipótesis que se probó, fue si había ocurrido una pérdida de diversidad genética a causa de la fuerte presión pesquera que sufrió la población a mediados del siglo pasado. Para ello, se evaluaron los efectos contemporáneos y de largo plazo en los cambios demográficos en el pasado de totoaba.

Primero se evaluó si los efectos contemporáneos como la sobrepesca, la degradación de hábitat y la pesca incidental fueron los factores responsables de una reducción de la diversidad genética de totoaba. Para evaluar esta hipótesis se realizaron tres pruebas para detectar recientes reducciones en  $N_e$ . Las pruebas de exceso de heterocigosidad y la distribución de las frecuencias alélicas (*mode shift*) mostraron consistentemente que la población de totoaba no sufrió un cuello de botella (Cornuet y Luikart, 1996; Luikart *et al.*, 1998; Luikart y Cornuet, 1998). Asimismo, la tasa  $M$  fue de 0.77, la cual se encuentra por arriba del valor umbral ( $M = 0.68$ ) para poblaciones que han sufrido cuello de botella (Garza y Williamson, 2001b).

El poder estadístico para detectar reducciones en  $N_e$  empleando estas metodologías depende principalmente de la magnitud y el tiempo en que ocurrió la disminución, así como del tamaño de muestra y número de loci empleados (Williamson-Natesan, 2005; Girod *et al.*, 2011; Peery *et al.*, 2012). Debido a todas estas fuentes de variación, los resultados deber ser tomados con cautela, ya que si la disminución en  $N_e$  no fue drástica, entonces ésta no puede ser detectada. En este estudio, sin embargo, se usaron 16 loci microsatélites y 180 individuos por lo que se contó con un suficiente poder para detectar cuello de botella, debido a que la mayoría de los estudios utilizan bajos números de muestra (31–38 individuos) y pocos marcadores (8–9 loci) (Revisado por: Peery *et al.*, 2012).

De acuerdo a estos resultados, el cambio de hábitat, la sobrepesca y la pesca incidental (Flanagan y Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata *et al.*, 1995) no tuvieron un impacto cuantificable en los niveles de variabilidad genética neutral evaluados mediante marcadores tipo microsatélites.

En segundo, término se evaluó, si las fluctuaciones de  $N_e$  ocurrieron a una mayor escala temporal. Ésta hipótesis se probó mediante el análisis de coalescencia Bayesiana

implementado en el programa MsVar (Beaumont, 1999; Storz y Beaumont, 2002). El análisis detectó una importante reducción de  $N_e$  de cuatro veces su  $N_e$  ancestral, lo cual ocurrió hace aproximadamente 7,413 (IC90%: 926–72,144) años. La precisión en la estimación de los parámetros demográficos  $N_e$  ancestral ( $N_1$ ),  $N_e$  actual ( $N_0$ ) y el tiempo del evento demográfico ( $T_a$ ) calculados por MsVAR se incrementa cuando las reducciones han sido severas ( $N_0/N_1 < 0.1$ ) y antiguas; asimismo el intervalo de confianza de los parámetros se reduce bajo las mismas circunstancias (Girod *et al.*, 2011). En el caso de la totoaba la reducción que se detectó fue moderada ( $N_0/N_1 < 0.1$ ), lo que implica que se hayan obtenido amplios intervalos de confianza en la estimaciones, lo cual ha sido reportado como un problema común de MsVar ante reducciones poblacionales moderadas de  $N_e$  (Girod *et al.*, 2011). En estos métodos, también existen incertidumbres asociadas al tipo de modelo mutacional y la tasa de mutación (Storz y Beaumont, 2002). Dado que los locus microsatélites mutan a una tasa específica, esto dificulta el poder obtener de manera precisa la fecha en que ocurrió la disminución poblacional y por lo tanto podría contribuir a posibles sesgos en la estimación de los parámetros ( $N_0$ ,  $N_1$  y  $T_a$ ) (Storz y Beaumont, 2002). Para sobrellevar esto, en el presente estudio se incluyó un amplio rango de valores *a priori* de tasas de mutación, que han sido reportados para una amplia variedad de organismos (Ellegren, 2000; Garza y Williamson, 2001b; Storz y Beaumont, 2002; Selkoe y Toonen, 2006), esta estrategia debería producir resultados menos especulativos ya que integran la variación existente entre diferentes taxa.

A pesar de la incertidumbre asociada con la estimación de los parámetros demográficos, la reducción poblacional se encuentra fuertemente soportada por el factor Bayes, sin embargo, utilizando el clásico nivel de  $p$ , se encontró que los intervalos de confianza de  $N_0$  y  $N_1$  se traslaparon por lo que el escenario de estabilidad demográfica no puede ser descartado. Si bien, en el escenario de una reducción poblacional, el tiempo preciso en que ocurrió la reducción no pudo ser inferido, se puede plantear un escenario tomando el 50% de los datos alrededor de la media del tiempo en que ocurrió la disminución poblacional ( $T_a$ ), este proceder arrojó un rango de 2,200 a 22,000 años atrás. Éste periodo de tiempo coincide con el rango del último máximo glacial en el Holoceno, donde varios eventos climáticos pudieron haber causado la disminución de totoaba debido a fuertes cambios oceanográficos y ecológicos (Keigwin y Jones, 1990; Barron *et al.*, 2004; Yasuhara *et al.*, 2008). Si bien, el

efecto causal no puede ser inferido, los resultados sugieren que la reducción poblacional está relacionada con los eventos climáticos de larga escala. Esta reducción poblacional han sido también inferidos en otras especies marinas como la anguila del Atlántico y el pargo del Golfo de México (Wirth y Bernatchez, 2003; Karlsson *et al.*, 2009), los cuales podrían ser patrones que responden a fenómenos con un impacto global como es el cambio climático.

En resumen, los resultados obtenidos en este estudio apoyan la hipótesis de que las actividades humanas que causaron el colapso poblacional de totoaba a mediados del siglo pasado no representaron factores que modificaran la diversidad genética de la totoaba y por lo tanto, el potencial evolutivo de la especie. En cambio las oscilaciones del tamaño efectivo de la población observadas en la totoaba están más relacionadas con eventos naturales climáticos del Holoceno.

#### **7.1.5 Tamaño efectivo poblacional**

Las estimaciones contemporáneas de  $N_e$  de totoaba se encontraron en el rango de 1,894 a 2,759 dependiendo del método empleado. Los valores estimados se encuentran por arriba del valor umbral  $N_e = 500$ , el cual ha sido establecido para evitar los efectos adversos de la deriva genética en poblaciones pequeñas (Frankham, 2007). Además, estas estimaciones se encuentran en el rango de valores estipulados ( $N_e$ : 1,000–5,000) para establecer medidas de conservación a largo plazo, considerando los efectos combinados de mutación, selección y deriva (Franklin y Frankham, 1998; Lynch y Lande, 1998). En poblaciones pequeñas ( $N_e < 500$ ) pueden surgir varios problemas que afectan la diversidad genética. Entre ellos se puede mencionar que la tasa de pérdida de diversidad es mayor que la tasa de generación de nuevas variantes (mutaciones) en la población, así como, la acumulación de mutaciones deletéreas las cuales traen efectos contraproducentes en la población (Lande, 1995; Frankham, 2005). Otro efecto, es un incremento en la endogamia debido al reducido pool genético de la población (Allendorf y Luikart, 2007). También, se ve afectado el potencial adaptativo de la población, ya que la magnitud de la deriva es mayor que la selección natural, lo que imposibilita a los organismos adaptarse ante nuevas adversidades (Franklin y Frankham, 1998; Allendorf y Luikart, 2007). La suma de todos estos efectos traer consigo la pérdida de diversidad genética y por lo tanto un incremento en el riesgo de extinción

(Frankham, 1995; Spielman *et al.*, 2004). Si bien, no se conoce el  $N_e$  la totoaba antes del colapso pesquero, al parecer aún cuenta con un tamaño efectivo poblacional que le permite mantener su variabilidad genética, y a su vez, enfrentar las potenciales futuras adversidades ambientales.

A pesar de los diferentes valores de  $N_e$  obtenidos con diferentes métodos, los valores fueron altamente consistentes entre sí, en comparación con otros estudios que estiman  $N_e$  con diferentes métodos donde las diferencias son mayores a un orden de magnitud (Therkildsen *et al.*, 2010). Los valores de  $N_e$  de totoaba no son muy distintos de las de otras especies de peces de importancia comercial que representan pesquerías saludables y otras que han colapsado, se puede apreciar que las estimaciones se encuentran en el rango de diferentes recursos pesqueros del mundo (ver: Tabla XIX). Las comparaciones de  $N_e$  entre diferentes estudios debe ser tomada con precaución debido a la aplicación de diferentes metodologías que varían en los supuestos, tiempo de resolución, así como el número y variabilidad de los marcadores (Anderson y Garza, 2009; Luikart *et al.*, 2010; Hare *et al.*, 2011). En el presente estudio se emplearon 16 loci microsatélites mientras que la mayoría de estudios que estiman  $N_e$  en peces marinos se basan en menos de 11 microsatélites (Tabla XIX). Por lo tanto, los resultados de la estimación de totoaba deberían ser relativamente más robustos con respecto a otros estudios.

El nivel de precisión en la estimación de  $N_e$  de los métodos de desequilibrio de ligamiento y Bayesianos, se incrementa a bajos niveles de  $N_e$  debido a que la señal de deriva es mayor en estas condiciones ( $N_e < 500$ ) (Waples y Do, 2010). Sin embargo, cuando  $N_e$  es grande ( $N_e > 1,000$ ) la precisión disminuye, en especial para el método desequilibrio de ligamiento, por ello el intervalo de confianza incluye el infinito. Por otro lado, los métodos Bayesianos contaron con una mayor precisión ya que pudieron resolver intervalos de confianza alrededor de la estimación de  $N_e$  porque utilizan un mayor número de estadísticos resumen y por lo tanto más información de los datos (Tallmon *et al.*, 2008). Otro problema asociado con la estimación de  $N_e$  es el supuesto de generaciones discretas, el cual es claramente violado por la mayoría de los peces marinos ya que normalmente presentan traslape de generaciones. En este sentido, el resultado del método desequilibrio de ligamiento puede ser interpretado como una estimación del número de reproductores si se muestrea una sola

generación (cohorte). En cambio, si el tamaño de muestra cubre varias generaciones igual al tamaño generacional entonces la estimación deber ser interpretada como el  $N_e$  generacional, pero esta relación aún no esta clara para este método (Waples, 2006; Waples y Yokota, 2007; Waples y Do, 2010). Los métodos de inferencia Bayesiana podrían estar sesgados por la violación del supuesto de generaciones discretas pero el efecto del posible sesgo no ha sido evaluado (Waples y Yokota, 2007). A pesar del posible sesgo asociado con las estimaciones, se obtuvieron resultados concordantes en la estimación de  $N_e$  entre los métodos empleados.

Los resultados obtenidos indican que el tamaño efectivo poblacional de la totoaba es suficientemente grande como para ser afectado por factores intrínsecos y extrínsecos (naturales) que la lleven a la extinción biológica, por lo que desde el punto de vista del potencial evolutivo, la totoaba no está bajo amenaza inmediata y aún conserva el suficiente potencial evolutivo para enfrentar posibles factores ambientales adversos. Es importante puntualizar que las diversas hipótesis que fueron invocadas para explicar la reducción poblacional ocurrida en el siglo pasado (Flanagan y Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Lercari y Chavez, 2007), no afectaron de manera medible la diversidad genética neutral y por ende el potencial evolutivo de la especie.

**Tabla XIX.** Tamaños efectivos poblacionales estimados para peces de importancia comercial con loci microsátélites. Número de loci utilizados (No. Loci), Tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) e intervalo de confianza (CI).

| <b>Especie</b>                 | <b>Lugar</b>      | <b>No. Loci</b> | <b><math>N_e</math></b> | <b>CI</b>    | <b>Referencia</b>                 |
|--------------------------------|-------------------|-----------------|-------------------------|--------------|-----------------------------------|
| <i>Gadus morhua</i>            | Inglaterra        | 3               | 121                     | 51–426       | (Hutchinson <i>et al.</i> , 2003) |
| <i>Gadus morhua</i>            | Mar Báltico       | 9               | 844                     | 428–2353     | (Poulsen <i>et al.</i> , 2006)    |
|                                |                   |                 | 1193                    | 605–4680     |                                   |
|                                | Moray Firth       |                 | 1068                    | 423–∞        |                                   |
|                                |                   |                 | 2067                    | 651–∞        |                                   |
| <i>Sebastes crameri</i> ,      | Oregon            | 7               | 9157                    | 6495–12215   | (Gomez-Uchida y Banks, 2006)      |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> ,   | Golfo de México   | 8               | 2365                    | 833–∞        | (Turner <i>et al.</i> , 2002)     |
|                                |                   |                 | 3516                    | 1785–18148   |                                   |
|                                |                   |                 | 1853                    | 317–72264    |                                   |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> ,   | Atlántico SO      | 5               | 560                     | 395–748      | (Chapman <i>et al.</i> , 2002)    |
| <i>Pleuronectes platessa</i> , | Islandia          | 8               | 1733                    | 1063–3598    | (Hoarau <i>et al.</i> , 2005)     |
|                                | Mar del Norte     |                 | 19535                   | 3435–70000   |                                   |
| <i>Lutjanus campechanus</i> ,  | Texas             | 19              | 1098                    | 652–2706     | (Saillant y Gold, 2006)           |
|                                | Alabama           |                 | 1235                    | 777–2515     |                                   |
|                                | Louisiana         |                 | >75000                  | >75 000      |                                   |
| <i>Mycteroperca microlepi</i>  | Florida           | 11              | 30975                   | 22 750–38100 | (Jue, 2006)                       |
| <i>Pagrus auratus</i> ,        | Bahía de Tasmania | 6               | 176                     | 80–720       | (Hauser <i>et al.</i> , 2002)     |
| <i>Thunnus thynnus</i>         | Mar Mediterráneo  | 8               | 752                     | 429–1853     | (Riccioni <i>et al.</i> , 2010)   |
|                                |                   |                 | 682                     | 363–695      |                                   |
|                                |                   |                 | 535                     | 307–1330     |                                   |
| <i>Pristis pectinata</i>       | Southwest Florida | 8               | 250–350                 | 142–955      | (Chapman <i>et al.</i> , 2011)    |
| <i>Sardina pichardus</i>       | Chioggia          | 6               |                         | 126–2504     | (Ruggeri <i>et al.</i> , 2012)    |
|                                | Vieste            |                 |                         | 197–4876     |                                   |

## 7.2 Datos demográficos

### 7.2.1 Estructura de tallas e historia de vida

Las capturas y la estructura de tallas en las campañas de muestreo de totoaba presentó variaciones espaciales y temporales, en su mayoría acordes a la hipótesis subyacente de migración de totoaba en Golfo de California (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Cisneros-Mata *et al.*, 1997). Bajo la hipótesis de migración, se menciona al delta del Río Colorado (Zona Núcleo) como la zona de desove y crianza de totoaba, asimismo, el patrón de migración indica que los juveniles de totoaba menores a dos años de edad permanecen en la zona del Alto Golfo de California, y que la zona de las islas Encantadas (San Luis Gonzaga) y alrededor de la isla Ángel de la Guarda concentra organismos adultos y preadultos (tres a seis años de edad) (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Cisneros-Mata *et al.*, 1997).

El presente estudio registró los organismos juveniles de menor talla en la Zona Núcleo adyacente al delta del Río Colorado, lo que indica que es una zona de crianza de nuevos reclutas. Mientras que los organismos adultos de mayor talla fueron registrados en esta zona en invierno y primavera (enero–mayo). Aunado a lo anterior, las zonas de captura de adultos maduros coinciden con las zonas de captura registrados en el pasado en lugares conocidos localmente como el chinero, el avión, el moreno, Bahía Omatepec (Flanagan y Hendrickson, 1976; Román-Rodríguez y Hammann, 1997). Asimismo, los resultados también coinciden con que la zona más próxima al delta, y en las zonas bajas tanto de la costa de Sonora y Baja California son las únicas zonas donde se han documentado juveniles de totoaba menores dos años (Román-Rodríguez y Hammann, 1997; Valdez-Muñoz *et al.*, 2010). Lo que hace suponer, que esta es la única área de desove y crianza de totoaba. Sin embargo, un dato que podría sugerir otra área de reclutamiento es un individuo de 450 mm (menor a dos años) capturado en Bahía de Lobos, que solo es equiparable a las tallas capturadas en la Zona Núcleo de la reserva. A menos que organismos de esa talla tengan la capacidad de nado como para realizar el patrón de migración concebido hasta ahora, éste hecho es la primera vez que es reportado. La falta de reportes de estructura de tallas a lo largo del área de distribución de totoaba no permite esclarecer objetivamente, si

organismos de esta talla son comunes en esta área. La idea de un área de desove y crianza de totoaba en el sur del Golfo de California, no se encuentra soportada por ningún otro tipo de evidencias como para sugerir un área alternativa de desove y crianza. Sin embargo, se requiere llevar a cabo un muestreo sistemático en esta zona para esclarecer este hecho. Por otro lado, los grupos modales de Roca Consag y San Luis Gonzaga corresponden a organismos juveniles y están presentes a lo largo del año, lo que confirma que los organismos de este estadio de vida permanecen por un largo periodo de tiempo en el área como lo mencionan Cisneros-Mata *et al.* (1995) y Cisneros-Mata *et al.* (1997).

Otro aspecto del patrón de migración documentado para la totoaba, es que los pre-adultos migran al sur por la costa sonorenses durante otoño e invierno (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). Las observaciones realizadas en este estudio indican que los organismos que migran por esta zona son organismos pre-adultos  $\approx 1.2$  m y son comunes en la época de diciembre hasta principios de febrero (*observación personal*). Sin embargo, estas tallas también fueron documentadas en la parte de Roca Consag e islas las Encantadas en la costa de la península de Baja California, en el mismo periodo de tiempo. Estas observaciones obligan a replantear el sentido de la migración de totoaba al encontrar organismos de las mismas tallas en lugares tan distantes, lo que hace suponer dos cosas: 1) No todos los organismos de la misma talla migran, es decir, existe un sector de la población que sea residente y sólo una fracción de la población migrante o, 2) Existen migraciones diferenciales entre grupos de la misma talla, es decir todos los organismos migran, pero se encuentran desfasados en tiempo. Bajo cualquiera de los dos escenarios es posible pensar que pueda haber una migración de contingente, la cual establece que los diferentes grupos de organismos dentro de una misma población migran hacía diferentes zonas a lo largo de su ciclo de vida, y posteriormente pueden volver (filopatría) o no a su sitio de origen natal para reproducirse (Secor, 1999). Dada la homogeneidad genética que presentó totoaba, una manera de contrastar la idea de contingente es mediante microquímica de otolitos, ya que los organismos almacenan una huella química particular del tipo de hábitat que han ocupado a lo largo de su ciclo de vida (Secor, 1999; Secor, 2010), o mediante marcaje directo de organismos (Abascal *et al.*, 2010). Dichos estudios permiten inferir los movimientos de los

individuos en espacio y tiempo. Con ello se podría tener una idea más clara del patrón de migración de totoaba.

Un aspecto interesante de resaltar es sobre el área de distribución actual de la totoaba. La ficha técnica de CITES se menciona el rango de distribución actual de totoaba se ha contraído hacía el norte del Golfo de California hasta la región de las grandes islas (Isla del Ángel de la Guarda e Isla Tiburón), (CITES, 2010) lo cual es una imprecisión. Según las observaciones realizadas hasta el momento, la contracción no ha ocurrido en la actualidad ni en el pasado reciente, las migraciones de totoaba en la parte sur de Sonora han sido una constante en la época de invierno en las últimas décadas, al menos hasta la localidad de Bahía de Lobos (*observación personal*). Además, se tiene el registro de un organismo capturado en la desembocadura del Río Fuerte en Sinaloa, el cual ha sido considerado su límite de distribución más sureño por la parte continental. El rango de distribución es uno de los aspectos más importantes para determinar el grado de amenaza de especies amenazadas (IUCN, 2013). Éste aspecto deberá ser tomado en cuenta para la nueva evaluación del estado de amenaza de totoaba y soporta la idea de que el rango de distribución de totoaba no se ha contraído y que conserva su rango de distribución histórico. De hecho, la presencia de totoaba en áreas donde no existen registros implica que el área de distribución de totoaba se ha expandido, o no se tenía un completo conocimiento de la misma.

Uno de los primeros efectos de la pesca en poblaciones de peces que han sido sobreexplotadas, es una reducción de la proporción de adultos y como consecuencia una reducción en la estructura de tallas de la población (Hilborn y Walters, 1992; Enberg *et al.*, 2009; Eikeset *et al.*, 2013; Heino *et al.*, 2013). Por lo tanto, la restauración de la distribución histórica de la estructura de edad (tallas) puede ser considerada un indicador de recuperación de la población (Anderson *et al.*, 2008; Field *et al.*, 2012; Brunel y Piet, 2013). La estructura de tallas de totoaba no se mostró truncada tal como se esperaría en una población que ha sido sobreexplotada. Asimismo, la estructura de tallas observada en las capturas con red, coincide con la estructura de tallas reportadas anteriormente para el

mismo arte de pesca en el pasado reciente en la década de los 80's y 90's, así como en el periodo previo a la declaratoria de veda de los 70's (Arvizu y Chávez, 1972; Rosales-Juárez y Ramírez-González, 1987; Román-Rodríguez y Hammann, 1997; Pedrín-Osuna *et al.*, 2001). Sin embargo, todas las comparaciones anteriores son posteriores al periodo de máxima explotación en los años 40's (Flanagan y Hendrickson, 1976), debido a que no existe un registro de tallas al inicio de la pesquería. Esto complica una evaluación objetiva del efecto de la explotación sobre la estructura de tallas de la población. No obstante, se puede decir que la estructura de tallas actual al menos es similar al momento cuando la población se encontraba bajo explotación y ha permanecido estable en las últimas décadas.

Uno de los parámetros biológicos que más se afectan por la explotación pesquera es la talla de primera madurez (Heino *et al.*, 2013). En el presente estudio la talla de primera madurez fue de 1333 mm de LT para hembras y de 1314 mm de LT para machos. Estimaciones similares han sido descritas en trabajos anteriores alrededor de los 1300 y 1200 mm para hembras y machos, respectivamente (Arvizu y Chávez, 1972; Molina-Valdez *et al.*, 1988). Ambas estimaciones son similares, y la diferencia entre ellas posiblemente se debe a las diferencias en el número de muestra, temporalidad en los muestreos y métodos de análisis. La talla de primera madurez de totoaba, es el producto combinado de una amplia explotación, así como una respuesta al cambio de condiciones del hábitat (Flanagan y Hendrickson, 1976; Rowell *et al.*, 2008b; Heino *et al.*, 2013). El análisis de isotopos estables de  $\delta^{18}O$  ha documentado el posible impacto del represamiento del Río Colorado en la tasa de crecimiento individual y talla de primera madurez de totoaba (Rowell *et al.*, 2008b). La comparación de las tasas de crecimiento en otolitos fosilizados de totoaba contra otolitos recientes, mostró que la totoaba tenía una mayor tasa de crecimiento individual cuando existían flujos del Río Colorado (1000-5000 años<sup>-1</sup>) con respecto al presente, y aparentemente alcanzaban la talla de primera madurez a una menor edad, ya que en el segundo año alcanzaban tallas de 1300 mm mientras que en la actualidad alcanzan esa talla entre los cinco a siete años de edad (Rowell *et al.*, 2008b). Si bien, la totoaba ha sido capaz de soportar la falta de condiciones estuarinas en el área de desove y crianza (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Bobadilla *et al.*, 2011; Valenzuela-Quiñonez *et al.*,

2011). Los datos históricos indican que la totoaba presentaba una mayor tasa de crecimiento individual cuando existían las condiciones estuarinas (Rowell *et al.*, 2008a), esto hace suponer que si se rehabilitara el área de desove y crianza impactaría en el desarrollo óptimo de los organismos y podría acelerar la recuperación de la población.

El empleo de la composición de la captura, en base a la proporción de individuos juveniles y adultos, ha sido planteada como una posible alternativa, ante recursos que cuentan con escasa información para contar con puntos de referencia para su manejo (Froese, 2004; Cope y Punt, 2009; Prince *et al.*, 2011). Esto se basa en ciertas características de la composición de las capturas sustentables, como lo son que las capturas deben presentar sólo una pequeña proporción de organismos juveniles, la captura se debe enfocar en las cohortes de mayor productividad, y se debe evitar la captura de los organismos de mayor talla (Froese, 2004). En el caso hipotético de apertura a la pesca, se puede apreciar que cuando se compara la talla de primera madurez con respecto a la composición de la captura, las artes de pesca empleadas no cumplen con los supuestos de sustentabilidad establecidos por Froese (2004).

En el caso de la captura mediante cañas, la talla de primera captura estimada en este estudio para la totoaba fue de  $S_{n50\%} = 850$  mm de LT y el rango de captura fue de 720 mm a 990 mm de LT, lo que implica que las cañas capturan exclusivamente organismos juveniles con el tipo de anzuelo, zona de pesca y temporada del año donde se llevaron a cabo los muestreos. En el caso de la captura mediante redes se tiene que la talla de primera captura fue de  $S_{n50\%} \approx 1365$  mm de LT y el rango de captura de 1275 mm a 1450 mm de LT, es decir, aproximadamente el 50% de la captura se compone también por organismos juveniles que no se han reproducido (Froese, 2004; Cope y Punt, 2009).

Los indicadores de composición de la captura fueron hechos para pesquerías que reflejan el cambio en la composición de la captura causada por la mortalidad por pesca (Froese, 2004), sin embargo, lo que se observó en el presente estudio es sólo el efecto de la selectividad de arte de pesca, es decir, no es el reflejo del cambio en la composición de tallas de la población a causa de la mortalidad por pesca (Cope y Punt, 2009). En este

contexto, estos artes de pesca no cumplen con los supuestos de sustentabilidad de Froese (2004). Es decir, si en un futuro se llegaran a usar para la pesca de totoaba, podrían traer efectos contraproducentes a la población, debido a que afectan sectores sensibles de la población (ver adelante: elasticidad y análisis de riesgo).

La pesca furtiva actual de la totoaba se realiza con redes de las mismas características que la empleada en el presente estudio, además las operaciones se realizan en la Zona Núcleo de la reserva durante el periodo reproductivo, estas son zonas someras donde los organismos son altamente vulnerables por sus características gregarias (Flanagan y Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Valenzuela-Quíñonez *et al.*, 2011). Por lo tanto, la pesca furtiva trae serias consecuencias a la población por la incidencia de juveniles en el arte de pesca y porque se capturan organismos adultos antes de que se reproduzcan durante la temporada reproductiva.

Los resultados de estructura de tallas de las capturas y distribución espacial parecen indicar que el patrón general de historia de vida de totoaba no ha cambiado. Asimismo, la composición de tallas de las capturas de totoaba permiten inferir que es una especie altamente vulnerable a la sobrepesca con los artes de pesca evaluados, debido a que no cumplen con los supuestos de sustentabilidad propuestos por Froese (2004), como lo son: a) sólo se deben capturar organismos maduros y b) que sólo se deben capturar organismos de la talla óptima donde se produce la mayor biomasa de la población. Sin embargo, debe mencionarse que esto último queda especulativo hasta no contar con una evaluación formal de un régimen de explotación en totoaba.

### **7.2.2 Demografía poblacional**

El presente estudio demostró la capacidad del análisis demográfico para identificar el potencial productivo, los impactos de la pesca en la tasa de crecimiento de la población, así como los parámetros demográficos más sensibles ante la pesca, en condiciones de poca información. Esta estrategia es útil para implementar futuras medidas de conservación.

El análisis de elasticidad relaciona el cambio proporcional de los valores de los parámetros demográficos (supervivencia y fecundidad) con respecto a la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ). Los parámetros con mayor elasticidad son los que tienen un mayor impacto en  $\lambda$  cuando son perturbados (Caswell, 2001). Las especies longevas con lento crecimiento se espera que presenten altas elasticidades en supervivencia y bajas elasticidades en fecundidad (Heppell *et al.*, 2000). Lo cual concuerda con el patrón encontrado en totoaba donde las elasticidades de supervivencia fueron mayores que las elasticidades de la fecundidad; a su vez, la supervivencia de juveniles presentó las mayores elasticidades, las cuales disminuyeron en función de la edad a partir de la edad de primera madurez. Esto también ha sido observado para otros Scieaenidos, así como un estudio previo de totoaba, donde la supervivencia de organismos juveniles presenta las mayores elasticidades (Cisneros-Mata *et al.*, 1997; Diamond *et al.*, 2000; Foster y Vincent, 2012).

Se construyeron diferentes escenarios para evaluar la respuesta de la población ante diferentes mortalidades por pesca (F) y edades de primera captura. En el primer escenario se evaluó  $\lambda$  bajo condiciones de no pesca, sólo incluyendo la incertidumbre de los parámetros demográficos. En cambio, en los escenarios que asumen mortalidad por pesca fueron construidos para contrastar dos tipos de selectividad; la primera, asumiendo selectividad tipo filo de cuchillo, la cual es una práctica común en este tipo de modelos (Quiroz *et al.*, 2011); y la segunda, asumiendo la selectividad del arte de pesca con una distribución normal. El segundo escenario se considera más realista, debido a que la mortalidad por pesca se encuentra ponderada por una curva de selectividad inferida para el arte de pesca empleado, el cual no presenta una forma tipo filo de cuchillo (Millar y Fryer, 1999).

Los resultados del escenario nulo (sin mortalidad por pesca) mostró que la población tiene el potencial de crecer bajo estas condiciones ( $\lambda = 1.47$ ; IC90%: 1.30-1.66). Asimismo, en los escenarios que asumen mortalidad por pesca, mostraron de manera general que la pendiente de la relación entre F y  $\lambda$  disminuye al incrementar la edad de primera captura. La principal diferencia entre los escenarios con mortalidad por pesca, se aprecia en las

edades de primera captura de adultos 9, 11 y 13 años, donde, en el escenario filo de cuchillo no se observó una disminución importante en  $\lambda$  cuando se incrementa F. En cambio, en el escenario ponderado por la selectividad del arte de pesca (distribución normal), si existe una disminución importante de  $\lambda$  conforme se incrementa F.

Las diferencias entre los efectos de los dos tipos de selectividad radican en el impacto que tienen sobre las elasticidades de la población. Por un lado, cuando se asume filo de cuchillo se considera que todos los organismos son 100% vulnerables a partir de la edad de primera captura y 0% vulnerable en las edades previas a la edad de primera captura. En cambio, bajo el escenario de la selectividad con la distribución normal, sólo la edad específica es 100% vulnerable y esta probabilidad disminuye hacia ambos extremos de la distribución. En el caso de filo de cuchillo, cuando la edad de primera captura es igual o mayor a los nueve años, los grupos de edad previos son 0% vulnerables al arte de pesca, por lo tanto, no se afectan los grupos de edad con las mayores elasticidades (*e.g.* 1–8 años), lo que implica que no haya una afectación importante sobre  $\lambda$ . En cambio, la curva de selectividad en edades de primera captura igual o mayores a los nueve años aún incluye la probabilidad de capturar individuos juveniles, es decir, aún considera un impacto sobre los grupos de edad que presentaron las mayores elasticidades previos a la edad de primera captura, por lo tanto, se tiene un mayor impacto sobre  $\lambda$ . Si consideramos que el último escenario (selectividad distribución normal) como el más realista. Entonces, se puede decir que el filo de cuchillo sobreestima el efecto de F en  $\lambda$  en las edades de primera captura de juveniles tres, cinco y siete años y subestima dicho efecto en las edades de primera captura de adultos 9, 11 y 13 años.

El análisis de riesgo mostró que las probabilidades de rebasar el PRL [ $P(\lambda < 1)$ ] con respecto a la tasa de crecimiento poblacional disminuyeron conforme se incrementó la edad de primera captura. También se determinó que la población es capaz de soportar una mayor F cuando se incrementa la edad de primera captura. En cambio cuando se capturan a edades tempranas, bajos niveles de F tienen altas probabilidades de sobrepasar PRL [ $P(\lambda < 1)$ ]. En

este sentido, existe un alto riesgo de que la población se encuentre en una condición no deseada si se capturan organismos juveniles.

El análisis de elasticidad, escenarios de mortalidad por pesca y el análisis de riesgo resaltan la importancia de la supervivencia de las edades previas a la edad de primera madurez, para mantener  $\lambda$  en condiciones óptimas que las cuales con una tasa de crecimiento poblacional positiva. En el caso hipotético de una apertura para su aprovechamiento, se tendrían serias consecuencias al afectar este sector de la población, porque bajos niveles de mortalidad por pesca provocan las condiciones no deseadas en la población. Si bien, la veda permanente impuesta a totoaba protege a toda la población, los mayores esfuerzos para su protección han sido enfocadas en el Alto Golfo en el área de desove y crianza enfocados principalmente en los adultos sin considerar a los organismos juveniles, ya que no existen medidas específicas para la reducción de captura incidental de juveniles de totoaba por parte de la pesca de arrastre (Bobadilla *et al.*, 2011).

Estos resultados también soportan la idea de que la pesca incidental de juveniles por la pesca de arrastre de camarón, pudo tener un mayor efecto substancial en la disminución de la población (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). La última estimación de mortalidad de totoaba causada por la flota camaronera fue a finales de los 80's, en donde se cuantificaron 120,000 individuos al año, por lo que existe un impacto considerable sobre la mortalidad de juveniles de totoaba (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). Este número posiblemente se encuentre subestimado debido al incremento en el poder y eficiencia de pesca de las redes de arrastre (Bobadilla *et al.*, 2011). Sin embargo, se ha evidenciado que la implementación de dispositivos excluidores de peces podría reducir en la mortalidad hasta en un 81% (97,000 organismos), así habría un menor impacto de la pesca de arrastre sobre los juveniles de totoaba (García-Caudillo *et al.*, 2000). Por lo tanto, la inclusión de excluidores de peces podría reducir en más de tres cuartas partes la mortalidad de juveniles. Lo que vendría a beneficiar en un incremento en la tasa de crecimiento de la población.

En este sentido, en el escenario de que la totoaba se llegara a usar como recurso pesquero en un futuro o para acelerar su recuperación, una estrategia interesante sería llevar a cabo

medidas específicas para minimizar los impactos de mortalidad por pesca incidental hacia los juveniles u/o enfocarse en conservar este sector de la población. Otra posible estrategia es proteger áreas con mayor riesgo, por ejemplo, Roca Consag y San Luis Gonzaga en el Alto Golfo de California debido a que cuentan con la presencia de organismos juveniles a lo largo del año, por lo que son lugares críticos para mantener a la población de totoaba en el largo plazo. Las futuras medidas de conservación de totoaba tendrán que reforzar estos lugares como santuarios de protección.

El modelo demográfico tiene al menos dos limitantes: 1) Los supuestos subyacentes del modelo, como son: que los parámetros no varían entre los individuos y que no existe denso-dependencia y 2) Los datos usados como entrada (Diamond *et al.*, 2000). Aún no se cuenta con ninguna investigación que aborde el efecto de la denso-dependencia para totoaba, sin embargo, existen modelos demográficos que contemplan el efecto de la denso-dependencia para contar con mejores estimaciones de  $\lambda$  (Caswell, 2001). Asimismo, la elección de los parámetros y los errores asociados a los parámetros son factores que pueden alterar los resultados, sin embargo, en el presente estudio se reestimaron y actualizaron los parámetros demográficos de totoaba con muestreos actuales de mucha mayor cobertura en espacio y tiempo. Por lo que, es muy probable que se hayan obtenido mejores estimaciones, que las obtenidas en estudios anteriores de fecundidad (Barrera-Guevara, 1990), edad y crecimiento (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Román-Rodríguez y Hamann, 1997), mortalidad (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). Además, se incorporó incertidumbre a los parámetros de entrada para generar un proceso estocástico y contar con los valores más probables de  $\lambda$  en cada uno de los escenarios. A pesar de sus limitantes, el modelo mostró ser una valiosa herramienta para evaluar el impacto de la potencial mortalidad por pesca en la población de totoaba.

### **7.3 Estado de conservación de la totoaba**

El estado de conservación actual de totoaba tiene que ser reevaluado en base a la nueva información que se está generando. La categoría de amenaza en la que está inscrita debe ser considerada en el contexto histórico en la que fue evaluada. La totoaba sufrió una fuerte

disminución poblacional a mediados del siglo pasado a causa de diferentes factores como sobrepesca, degradación de hábitat y pesca incidental (Flanagan y Hendrickson, 1976). Esto la llevó a ser enlistada en peligro crítico de extinción por la CITES en 1976 como medida legal para evitar su comercio internacional (Barrera-Guevara, 1990). A mediados del siglo pasado el paradigma general de los recursos pesqueros aún los consideraban como inexhaustibles y los primeros colapsos pesqueros conocidos fueron en la década de los 70s (Mullon *et al.*, 2005), de acuerdo a esto, la totoaba fue uno de los primeros recursos pesqueros en el mundo en colapsar. Los administradores de la pesca no conocían el colapso en esa época, mucho menos el tipo de colapso al cual se enfrentaban (Mullon *et al.*, 2005). Además, los criterios para determinar el grado de amenaza en especies silvestres iniciaron en los 90s y han evolucionado por más de una década, siendo los más consolidados los de la IUCN versión 3.1 del año 2001 (IUCN, 2001). A pesar del gran esfuerzo realizado por uniformizar dichos criterios, actualmente existe un fuerte debate si dichos criterios son aplicables a recursos pesqueros que han sido sobreexplotados o han colapsado (Powles *et al.*, 2000; Reynolds *et al.*, 2005). Ante esto, la AFS creó sus propios criterios en base a la productividad de la especie y diferentes magnitudes en reducción de abundancia (Musick, 1999; Musick *et al.*, 2000).

En este contexto, el estado de amenaza de totoaba crea una paradoja, debido a que los criterios para designar el nivel de amenaza fueron creados casi tres décadas posteriores a su designación, y una vez creados los criterios, sólo se tenía información de totoaba que se generó a mediados del siglo pasado. Esta brecha temporal entre la época del colapso de totoaba a la creación de los criterios, provoca que los criterios no sean directamente aplicables a totoaba en base a sólo la información histórica generada anteriormente. La designación fue hecha en una época en que los criterios aún no se establecían; y en la época en que se elaboraron los criterios, no se contaba con información actualizada de totoaba. El principal criterio para la designación de una categoría de amenaza fue el de reducción en abundancia, éste criterio no puede ser utilizado para totoaba debido a que no se cuenta con información histórica de abundancia en las últimas tres décadas. El siguiente criterio fue el de área de distribución donde la ficha técnica de CITES menciona que el rango de

distribución de totoaba se ha contraído desde la desembocadura del Río Colorado hasta la altura de las grandes islas (isla Ángel de la Guarda e isla Tiburón) al sur (CITES, 2010), lo cual es una imprecisión. La distribución de totoaba por la parte continental no se ha contraído en distribución al menos hasta la altura del sistema lagunar Bahía de Lobos–Algodones en las últimas décadas (*observación personal*). Asimismo, el presente trabajo registró un ejemplar capturado en la desembocadura del Río Fuerte, el cual fue registrado como su límite de distribución por la parte continental. Además, se cuenta con registros de organismos hasta la Bahía de la Paz, Baja California Sur extendiendo el límite de distribución conocido de totoaba por el lado de la península.

Aunado a lo anterior, la totoaba ha sido capaz de soportar sobreexplotación, degradación de hábitat y pesca incidental (Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011). El presente trabajo pudo confirmar que el patrón de historia de vida conocido de totoaba se mantiene en la actualidad, la temporalidad de las capturas en diferentes épocas del año, los grupos de tallas característicos a lo largo del Golfo de California coinciden en general con la hipótesis de migración de totoaba, también se mantienen la temporada y zonas de reproducción en el Alto Golfo (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011). Asimismo, no existe una estricta dependencia al agua dulce para llevar a cabo la reproducción como había sido concebido anteriormente (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Ortíz-Viveros, 1999; Valdez-Muñoz *et al.*, 2010; Bobadilla *et al.*, 2011; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011). La estructura de tallas fue similar a la reportada en las capturadas realizadas en los años entre 1960 a 1993 (Rosales-Juárez y Ramírez-González, 1987; Román-Rodríguez y Hammann, 1997; Pedrín-Osuna *et al.*, 2001). La totoaba además, cuenta con una diversidad genética que le permite conservar su potencial evolutivo, el cual es semejante a otros sciaenidos y recursos pesqueros del mundo que no están bajo ninguna amenaza y con niveles equivalentes de diversidad genética (Valenzuela-Quiñonez *et al.*, en prensa), y de acuerdo a los estudios de riesgo, la totoaba es capaz de soportar niveles moderados de mortalidad por pesca. Todas las anteriores evidencias permiten sugerir que la totoaba, no presenta características de poblaciones que se dirigen hacia la extinción. Si bien, no se puede afirmar una total recuperación de la población debido a que no se tiene una línea base

previa al colapso para la comparación (Lotze *et al.*, 2011). Se puede decir que la población al menos presenta signos de recuperación parcial. Por lo tanto, su estado de conservación necesita ser reevaluado de cara a su nueva realidad.

Quizás la principal amenaza actual de totoaba sigue siendo la pesca furtiva estimulada por el mercado asiático, lo cual no ha cambiado desde mediados del siglo pasado, ya que los precios de la vejiga gaseosa (buche) pueden sobrepasar los \$ 2,000 USD por kilogramo (*Entrevistas: obs. pers.*). Este hecho provoca que los pescadores se arriesguen a capturar organismos como una pesca objetivo y ya no incidental asociada a otras pesquerías. La falta de cumplimiento de la normatividad vigente para proteger la especie de manera efectiva por parte de las autoridades gubernamentales, propicia que exista pesca furtiva indiscriminada de totoaba desde diciembre del 2012. El precio de totoaba presenta una ambigüedad que necesita ser discutida por los tomadores de decisiones: 1) representa una oportunidad para convertirse en una de las pesquerías más redituables del país o 2) incentiva a la sobreexplotación del recurso pasando por alto las normas legislativas vigentes. La información generada en el presente documento, así como la que se generará en el futuro próximo, ayudará a esclarecer el estado de conservación de la totoaba y la regulación de su potencial aprovechamiento.

## 8. CONCLUSIONES

- Se rechaza la hipótesis planteada en esta investigación ya que la totoaba no presenta las características de especies que se dirigen hacia la extinción y presenta señales de recuperación poblacional. Por lo tanto su estatus de conservación necesita ser reevaluado.
- El presente trabajo no pudo rechazar la hipótesis de panmixia de totoaba en el Golfo de California. Para reforzar esta conclusión se requiere incrementar el área y tamaño de muestras a lo largo de la nueva distribución.
- La fuerte disminución poblacional a mediados del siglo pasado no afectó de manera cuantificable la diversidad genética de totoaba. Sin embargo, se detectó una reducción en el tamaño efectivo poblacional hace 7400 años. Por lo tanto, la diversidad genética de totoaba se encuentra más relacionada con eventos climáticos históricos de larga escala.
- La cuantificación del tamaño efectivo poblacional permitió establecer que totoaba conserva su potencial evolutivo para afrontar futuras adversidades, así como establecer medidas de conservación en el largo plazo.
- El patrón de historia de vida de totoaba no parece haberse modificado a pesar de la fuerte disminución poblacional del siglo pasado.
- Las elasticidades fueron mayores para la supervivencia que para la fecundidad. Las elasticidades de supervivencia fueron mayores para juveniles, y estas disminuyeron en función de la edad, siendo los adultos, los que presentaron las menores elasticidades.
- El análisis demográfico indicó que la totoaba tiene la capacidad de crecer bajo condiciones de no pesca. Asimismo, se encontró una relación negativa entre  $\lambda$  y  $F$  asumiendo selectividad por pesca tipo filo de cuchillo y selectividad con base a la distribución normal. La selectividad tipo filo de cuchillo sobreestima el efecto de  $F$  en  $\lambda$  en las edades de primera captura previas a la edad de primera madurez y subestima el mismo efecto en las edades posteriores a la edad de primera captura.

La diferencia en la magnitud entre los tipos de selectividad es explicado por el impacto diferencial en las elasticidades de los diferentes grupos de edad.

- El análisis de riesgo mostró que totoaba puede soportar niveles moderados de  $F$  con un bajo riesgo de sobrepasar el punto de referencia límite [ $PRL = P(\lambda < 1)$ ]. El riesgo de sobrepasar PRL disminuye al incrementar la edad de primera captura. Las edades de primera captura posteriores a la edad de primera madurez, presentaron un bajo nivel de riesgo de sobrepasar PRL.

## 9. REFERENCIAS

- Abascal FJ, Mejuto J, Quintans M, Ramos-Cartelle A. 2010. Horizontal and vertical movements of swordfish in the Southeast Pacific. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 67:466-474.
- Allendorf FW, Luikart G. 2007. *Conservation and the Genetics of Populations*. Malden, MA: Blackwell. 642 pp.
- Anderson CNK, Hsieh C-h, Sandin SA, Hewitt R, Hollowed A, Beddington J, May RM, Sugihara G. 2008. Why fishing magnifies fluctuations in fish abundance. *Nature* 452:835-839.
- Anderson EC, Garza JC. 2009. Estimation of Population Size with Molecular Genetic Data. In: USA DoC, editor. Santa Cruz: National Oceanic and Atmospheric Administration SWFSC.
- Anderson JD, Karel WJ. 2010. Population Genetics and Dynamics of Spotted Seatrout in the Estuarine Waters of Texas. *Fisheries and Aquaculture Journal FAJ-2*:1-19.
- Archangi B, Chand V, Mather PB. 2009. Isolation and characterization of 15 polymorphic microsatellite DNA loci from *Argyrosomus japonicus* (mulloway), a new aquaculture species in Australia. *Molecular Ecology Resources* 9:412-414.
- Arvizu J, Chávez H. 1972. Sinopsis sobre la biología de la totoaba *Cynoscion macdonaldi* Gilbert, 1891. *FAO Fish Synop*:26.
- Arvizu J, Chávez H. 1979. Sinopsis sobre la biología de la totoaba *Cynoscion macdonaldi* Gilbert, 1891. In: *Fish Synop*: FAO p26.

- Barrera-Guevara JC. 1990. The conservation of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert), (Pisces: Sciaenidae), in the Gulf of California, México. *Journal of Fish Biology* 37:201-202.
- Barron JA, Bukry D, Bischoff JL. 2004. High resolution paleoceanography of the Guaymas Basin, Gulf of California, during the past 15000 years. *Marine Micropaleontology* 50:185-207.
- Beaumont MA. 1999. Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153:2013-2029.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. In. Montpellier (France): Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Benton TG, Grant A. 1999. Elasticity analysis as an important tool in evolutionary and population ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 14:467-471.
- Berdegú AJ. 1955. La pesquería de Totoaba (*Cynoscion macdonaldi*) en San Felipe, Baja California. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 16:45-78.
- Beverton RJH, Holt SJ. 1957. On the dynamics of exploited fish populations. London. pp.
- Beverton RJH, Holt SJ. 1959. A review of the lifespans and mortality rates of fish in nature, and their relation to growth and other physiological characteristics. In: Wolstenholme GEW, O'Connor M, editors. CIBA Foundation, colloquia on ageing. London: Churchill. p 142-180.

- Blandon I, Morales C, Vega R, Deborah Overath R, Stunz G, Ward R. 2011. Development of primers for 29 microsatellite loci in spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). Conservation Genetics Resources 3:123-126.
- Bobadilla M, Alvarez-Borrego S, Avila-Foucat S, Lara-Valencia F, Espejel I. 2011. Evolution of environmental policy instruments implemented for the protection of totoaba and the vaquita porpoise in the Upper Gulf of California. Environmental Science & Policy 14:998-1007.
- Brunel T, Piet GJ. 2013. Is age structure a relevant criterion for the health of fish stocks? ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil 70:270-283.
- Caddy JF, Mahon R. 1995. Reference points for fisheries management. FAO Fisheries Technical Paper:83.
- Carlsson J. 2008. Effects of Microsatellite Null Alleles on Assignment Testing. Journal of Heredity 99:616-623.
- Caswell H. 2001. Matrix population models: Construction, analysis and interpretation, 2 ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. 722 pp.
- Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. The American Journal of Human Genetics 19:233-257.
- Chapman DD, Simpfendorfer CA, Wiley TR, Poulakis GR, Curtis C, Tringali M, Carlson JK, Feldheim KA. 2011. Genetic diversity despite population collapse in a critically endangered marine fish: the Smalltooth Sawfish (*Pristis pectinata*). Journal of Heredity 102:643-652.

- Chapman RW, Ball AO, Mash LR. 2002. Spatial homogeneity and temporal heterogeneity of red drum (*Sciaenops ocellatus*) microsatellites: effective population sizes and management implications. *Marine Biotechnology* 4:589-603.
- Chapuis MP, Estoup A. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24:621-631.
- Chute R. 1928. The totuava fishery at the California Gulf. *California Fish and Game* 14:275-281.
- Cisneros-Mata MA, Botsford LW, Quinn JF. 1997. Projecting viability of *Totoaba macdonaldi*, a population with unknown age-dependent variability. *Ecological Applications* 7:968-980.
- Cisneros-Mata MA, Montemayor-López G, Román-Rodríguez MJ. 1995. Life history and conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conservation Biology* 9:806-814.
- CITES-UNEP. 2011. Checklist of CITES species (CD-ROM). In: CITES Secretariat G, Switzerland, and UNEP-WCMC, editor. Cambridge, United Kingdom.
- CITES. 2010. Review of CITES Appendixes Based on Resolution Conf. 9.24 (Rev.) *Totoaba macdonaldi* (Mexican seabass). In.
- Cook JG. 1984. Glossary of technical terms. In: May RM, editor. *Exploitation of Marine Communities*. New York: Springer-Verlag. p 348.
- Cope JM, Punt AE. 2009. Length-based reference points for data-limited situations: applications and restrictions. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*:169-186.

- Cordes JF, Graves JE. 2003. Investigation of congeneric hybridization in and stock structure of weakfish (*Cynoscion regalis*) inferred from analyses of nuclear and mitochondrial DNA loci. *Fishery Bulletin* 101:443-450.
- Cornuet JM, Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-2014.
- Cornuet JM, Santos F, Beaumont MA, Robert CP, Marin JM, Balding DJ, Guillemaud T, Estoup A. 2008. Inferring population history with DIY ABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics* 24:2713-2719.
- Cortés E. 2002. Incorporating uncertainty into demographic modeling: application to shark populations and their conservation. *Conservation Biology* 16:1048-1062.
- Costello C, Ovando D, Hilborn R, Gaines SD, Deschenes O, Lester SE. 2012. Status and solutions for the world's unassessed fisheries. *Science* 338:517-520.
- Craig JA. 1926. A new fishery in Mexico. *California Fish and Game* 12:166-169.
- Crowder LB, Crouse DT, Heppell SS, Martin TH. 1994. Predicting the Impact of Turtle Excluder Devices on Loggerhead Sea Turtle Populations. *Ecological Applications* 4:437-445.
- Cuveliers EL, Volckaert FAM, Rijnsdorp AD, Larmuseau MHD, Maes GE. 2011. Temporal genetic stability and high effective population size despite fisheries-induced life-history trait evolution in the North Sea sole. *Molecular Ecology* 20:3555-3568.
- D'Anatro A, Pereira A, Lessa E. 2011. Genetic structure of the white croaker, *Micropogonias furnieri*; Desmarest 1823 (Perciformes: Sciaenidae) along

Uruguayan coasts: contrasting marine, estuarine, and lacustrine populations. *Environmental Biology of Fishes* 91:407-420.

De Anda Montañez J, García de León F, Zenteno Savín T, Balart EF, Méndez Rodríguez LC, Bocanegra Castillo N, Martínez Aguilar S, Campos Dávila L, Román-Rodríguez M, Valenzuela-Quiñonez F, Rodríguez Jaramillo MC, M.E. MC, Ramírez Rosas JJ, Saldaña Hernández JI, Olguín Monroy NO, Martínez Delgado ME. 2013. Estado de salud y estatus de conservación de la(s) población(es) de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) en el Golfo de California: una especie en peligro de extinción. In: Primera etapa convenio: FB1508/HK050/10. La Paz B.C.S.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad p111.

de Kroon H, van Groenendael J, Ehrlén J. 2000. Elasticities: a review of methods and model limitations. *Ecology* 81:607-618.

Dempster AP, Laird NM, Rubin DB. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*:1-38.

DeWoody JA, Avise JC. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56:461-473.

Diamond SL, Cowell LG, Crowder LB. 2000. Population effects of shrimp trawl bycatch on Atlantic croaker. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57:2010-2021.

- Do C, Waples RS, Peel D, Macbeth GM, Tillett BJ, Ovenden JR. 2013. 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.
- Dulvy NK, Reynolds JD. 2002. Predicting extinction vulnerability in skates. *Conservation Biology* 16:440-450.
- Dulvy NK, Sadovy Y, Reynolds JD. 2003. Extinction vulnerability in marine populations. *Fish and Fisheries* 4:25-64.
- Earl D, vonHoldt B. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4:359-361.
- Eikeset AM, Richter A, Dunlop ES, Dieckmann U, Stenseth NC. 2013. Economic repercussions of fisheries-induced evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Ellegren H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* 16:551-558.
- Enberg K, Jørgensen C, Dunlop ES, Heino M, Dieckmann U. 2009. Implications of fisheries-induced evolution for stock rebuilding and recovery. *Evolutionary Applications* 2:394-414.
- Enberg K, Jørgensen C, Dunlop ES, Varpe Ø, Boukal DS, Baulier L, Eliassen S, Heino M. 2012. Fishing-induced evolution of growth: concepts, mechanisms and the empirical evidence. *Marine Ecology* 33:1-25.

- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611-2620.
- Excoffier L, Estoup A, Cornuet JM. 2005a. Bayesian analysis of an admixture model with mutations and arbitrarily linked markers. *Genetics* 169:1727-1738.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005b. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics* 1:47-50.
- Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10:564-567.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* 7:574-578.
- FAO. 1996. Precautionary approach to capture fisheries and species introductions. Rome. 54 pp.
- Farias IP, Muniz LB, Astolfi-Filho S, Sampaio I. 2006. Isolation and characterization of DNA microsatellite primers for *Cynoscion acoupa*, the most exploited sciaenid fish along the coast of Brazil. *Molecular Ecology Notes* 6:660-663.
- Felsenstein J. 1993. PHYLIP (Phylogeny inference package) Version 3.69. In: Department of Genetics. Seattle: University of Washington.

- Field IC, Buckworth RC, Yang G-J, Meekan MG, Johnson G, Stevens JD, Pillans RD, McMahon CR, Bradshaw CJA. 2012. Changes in size distributions of commercially exploited sharks over 25 years in northern Australia using a Bayesian approach. *Fisheries Research* 125–126:262-271.
- Fisher RA. 1930. *The genetical theory of natural selection*. Oxford, England: Clarendon Press. 272 pp.
- Flanagan CA, Hendrickson R. 1976. Observations on the commercial fishery and reproductive biology of the Totoaba *Cynoscion macdonaldi* in the northern Gulf of California. *Fishery Bulletin* 74:531-544.
- Fogarty MJ, Mayo RK, O'Brien L, Serchuk FM, Rosenberg AA. 1996. Assessing uncertainty and risk in exploited marine populations. *Reliability Engineering & System Safety* 54:183-195.
- Foster SJ, Vincent ACJ. 2012. Advice in spite of great uncertainty: assessing and addressing bycatch of small fishes with limited data using *Stellifer illecebrosus* as a case study. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*:639-651.
- Francis R, Shotton R. 1997. "Risk" in fisheries management: a review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54:1699-1715.
- Frankham R. 1995. Conservation genetics. *Annual Review of Genetics* 29:305-327.
- Frankham R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126:131-140.
- Frankham R. 2007. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review (Reprinted from *Genet. Res., Camb.*, vol 66, pg 95-107, 1995). *Genetics Research* 89:491-503.

- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA. 2004. Introduction to Conservation Genetics, Fourth Edition ed. New York, NY: Cambridge University Press. 617 pp.
- Frankham R, Franklin IR. 1998. Response to Lynch and Lande. *Animal Conservation* 1:73-73.
- Franklin IR, Frankham R. 1998. How large must populations be to retain evolutionary potential? *Animal Conservation* 1:69-70.
- Froese R. 2004. Keep it simple: three indicators to deal with overfishing. *Fish and Fisheries* 5:86-91.
- García-Caudillo JM, Cisneros-Mata MA, Balmori R, Alejandro. 2000. Performance of a bycatch reduction device in the shrimp fishery of the Gulf of California, México. *Biological Conservation* 92:199-205.
- García-de-León F, Valles-Jimenez R, Shaw K, Ward R, de-Anda-Montañez J, Martinez-Delgado M. 2010. Characterization of fourteen microsatellite loci in the endemic and threatened totoaba (*Totoaba macdonaldi*) from the Gulf of California. *Conservation Genetics Resources* 2:219-221.
- Garza JC, Williamson EG. 2001a. Detecting reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology* 10:305-318.
- Garza JC, Williamson EG. 2001b. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology* 10:305-318.
- Gerber LR, Heppell SS. 2004. The use of demographic sensitivity analysis in marine species conservation planning. *Biological Conservation* 120:121-128.

- Gerber LR, Tinker MT, Doak DF, Estes JA, Jessup DA. 2004. Mortality sensitivity in life-stage simulation analysis: a case of study of southern sea otters. *Ecological Applications* 14:1554-1565.
- Girod C, Vitalis R, Leblois R, Fréville H. 2011. Inferring population decline and expansion from microsatellite data: a simulation-based evaluation of the MsVar method. *Genetics* 188:165-179.
- Gislason H, Daan N, Rice JC, Pope JG. 2010. Size, growth, temperature and the natural mortality of marine fish. *Fish and Fisheries* 11:149-158.
- Gomez-Uchida D, Banks MA. 2006. Estimation of effective population size for the long-lived darkblotched rockfish *Sebastes crameri*. *Journal of Heredity* 97:603-606.
- Goudet J. 2001. FSTAT. A program to estimate and test gene diversity and fixation indices, Versión 2.9.3. In: .
- Haddon M. 2001. *Modelling and Quantitative Methods in Fisheries*. New York: Chapman & Hall CRC. pp.
- Hare MP, Nunney L, Schwartz MK, Ruzzante DE, Burford M, Waples RS, Ruegg K, Palstra F. 2011. Understanding and estimating effective population size for practical application in marine species management. *Conservation Biology* 25:438-449.
- Harwood J. 2000. Risk assessment and decision analysis in conservation. *Biological Conservation* 95:219-226.
- Hauser L, Adcock GJ, Smith PJ, Bernal-Ramírez JH, Carvalho GR. 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited

- population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99:11742-11747.
- Hauser L, Carvalho GR. 2008. Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. Fish and Fisheries 9:333-362.
- Hedgecock D. 1994. Does variance in reproductive success limit effective population sizes of marine organisms? In: Beaumont AR, editor. Genetics and Evolution of Aquatic Organisms. London: Chapman & Hall. p 122-214.
- Hedrick P. 2005. Large variance in reproductive success and the  $N_e/N$  ratio. Evolution 59:1596-1599.
- Heino M, Baulier L, Boukal DS, Ernande B, Johnston FD, Mollet FM, Pardoe H, Therkildsen NO, Uusi-Heikkilä S, Vainikka A, Arlinghaus R, Dankel DJ, Dunlop ES, Eikeset AM, Enberg K, Engelhard GH, Jørgensen C, Laugen AT, Matsumura S, Nusslé S, Urbach D, Whitlock R, Rijnsdorp AD, Dieckmann U. 2013. Can fisheries-induced evolution shift reference points for fisheries management? ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil 70:707-721.
- Henriques R, McKeown N, Shaw P. 2011. Isolation of 12 microsatellite markers for geelbeck (*Atractoscion aequidens* (Cuvier, 1860), Sciaenidae), an overexploited marine fish. Conservation Genetics Resources:1-3.
- Heppell SS, Caswell H, Crowder LB. 2000. Life histories and elasticity patterns: perturbation analysis for species with minimal demographic data. Ecology 81:654-665.

- Hewitt DA, Hoenig JM. 2005. Comparison of two approaches for estimating natural mortality based on longevity. *Fishery Bulletin* 103:433-437.
- Hilborn R. 2007. Reinterpreting the state of fisheries and their management. *Ecosystems* 10:1362-1369.
- Hilborn R, Maguire J-J, Parma AM, Rosenberg AA. 2001. The Precautionary Approach and risk management: can they increase the probability of successes in fishery management? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58:99-107.
- Hilborn R, Peterman RM. 1996. The development of scientific advice with incomplete information in the context of the precautionary approach. *FAO Fisheries Technical Paper (FAO)*.
- Hilborn R, Quinn TP, Schindler DE, Rogers DE. 2003. Biocomplexity and fisheries sustainability. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:6564-6568.
- Hilborn R, Walters CJ. 1992. *Quantitative Fisheries Stock Assessment: Choice, Dynamics and Uncertainty*. New York, NY: Chapman and Hall. 570 pp.
- Hill G. 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetical Research* 38:209-216.
- Hoarau G, Boon E, Jongma DN, Ferber S, Palsson J, Van der Veer HW, Rijnsdorp AD, Stam WT, Olsen JL. 2005. Low effective population size and evidence for inbreeding in an overexploited flatfish, plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272:497-503.
- Hoenig JM. 1983. Empirical use of longevity data to estimate mortality rates. *Fishery Bulletin* 82:898-903.

- Hood G. 2011. PopTools Version 3.2.5. In: Organization CSaIR, editor. Canberra, Australia.
- Hovgård H, Lassen H. 2000. Manual on estimation of selectivity for gillnet and longline gears in abundance surveys. In: FAO Fisheries Technical Paper. Rome. p 84.
- Hutchinson WF. 2008. The dangers of ignoring stock complexity in fishery management: the case of the North Sea cod. *Biology Letters* 4:693-695.
- Hutchinson WF, van Oosterhout C, Rogers SI, Carvalho GR. 2003. Temporal analysis of archived samples indicates marked genetic changes in declining North Sea cod (*Gadus morhua*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:2125-2132.
- IUCN. 2001. Categorías y criterios de la lista roja de la UICN: Versión 3.1. In: Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: IUCN. p ii+32.
- IUCN. 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. In: IUCN.
- Jarne P, Lagoda PJJ. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* 11:424-429.
- Jordan DS, Evermann BW. 1896. The fishes of the north and middle America. U.S. Natural Museum Bulletin 47:1240 pp.
- Jue NK. 2006. Exploring the structure of genetic variation and the influences of demography on effective population size in the gag grouper *Mycteroperca microlepi* (Goode & Bean). *Journal of Fish Biology* 69:217-224.
- Karlsson S, Renshaw MA, Rexroad CE, Gold JR. 2008. Microsatellite primers for red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fishery Bulletin* 106:476-482.

- Karlsson S, Saillant E, Gold J. 2009. Population structure and genetic variation of lane snapper (*Lutjanus synagris*) in the northern Gulf of Mexico. *Marine Biology* 156:1841-1855.
- Keigwin LD, Jones GA. 1990. Deglacial climatic oscillations in the Gulf of California. *Paleoceanography* 5:1009-1023.
- King M. 1995. Fisheries biology, assessment and management. UK: Oxford University Press. 342 pp.
- Lande R. 1995. Mutation and conservation. *Conservation Biology* 9:782-791.
- Latch E, Dharmarajan G, Glaubitz J, Rhodes O, Jr. 2006. Relative performance of Bayesian clustering software for inferring population substructure and individual assignment at low levels of population differentiation. *Conservation Genetics* 7:295-302.
- Lavín MF, Godínez VM, Alvarez LG. 1998. Inverse-estuarine features of the Upper Gulf of California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 47:769-795.
- Lavín MF, Sánchez S. 1999. On how the Colorado River affected the hydrography of the upper Gulf of California. *Continental Shelf Research* 19:1545-1560.
- Lercari D, Chavez EA. 2007. Possible causes related to historic stock depletion of the totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Perciformes: Sciaenidae), endemic to the Gulf of California. *Fisheries Research* 86:136-142.
- Li J, Feng F, Yue GH. 2006. Twelve novel polymorphic microsatellites in a marine fish species, yellow croaker *Larimichthys polyactis*. *Molecular Ecology Notes* 6:188-190.

- Lotze HK, Coll M, Magera AM, Ward-Paige C, Airoidi L. 2011. Recovery of marine animal populations and ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution* 26:595-605.
- Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* 89:238-247.
- Luikart G, Cornuet JM. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* 12:228-237.
- Luikart G, Ryman N, Tallmon D, Schwartz M, Allendorf F. 2010. Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conservation Genetics* 11:355-373.
- Lynch M, Lande R. 1998. The critical effective size for a genetically secure population. *Animal Conservation* 1:70-72.
- Ma CY, Ma HY, Ma LB. 2011. Development and testing of 13 polymorphic microsatellite markers in *Larimichthys polyactis* (Sciaenidae) using 5' anchored PCR. *Genetics and Molecular Research* 10:1455-1460.
- Matsuda H, Yahara T, Ouzumi Y. 1997. Is tuna critically endangered? Extinction risk of a large and overexploited population. *Ecological Research* 12:345-356.
- Millar R, Fryer R. 1999. Estimating the size-selection curves of towed gears, traps, nets and hooks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9:89-116.
- Molina-Valdez D, Cisneros-Mata MA, Urias-Sotomayor R, Cervantes-Vaca C, Marquez-Tiburcio MA. 1988. Prospección y evaluación de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*)

en el Golfo de California. In: Tecnología IFCNdCy, editor. Guaymas, Sonora, México.

- Morales-Bojórquez E, Martínez-Aguilar S, Arreguín-Sánchez F, Ramírez-Rodríguez M. 2003. GIM, programa computarizado para estimar la mortalidad natural y duración de los estadios del ciclo de vida de recursos pesqueros, basado sobre división de tiempo gnomonico. In. La Paz, B.C.S., Mexico.: Centro Regional de Investigación Pesquera de La Paz del INP, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN.
- Mullon C, Fréon P, Cury P. 2005. The dynamics of collapse in world fisheries. *Fish and Fisheries* 6:111-120.
- Musick JA. 1999. Criteria to define extinction risk in marine fishes. *Fisheries* 24:6-14.
- Musick JA, Harbin MM, Berkeley SA, Burgess GH, Eklund AM, Findley L, Gilmore RG, Golden JT, Ha DS, Huntsman GR, McGovern JC, Parker SJ, Poss SG, Sala E, Schmidt TW, Sedberry GR, Weeks H, Wright SG. 2000. Marine, estuarine, and diadromous fish stocks at risk of extinction in North America (Exclusive of Pacific Salmonids). *Fisheries* 25:6-30.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, NY: Columbia University Press. pp.
- Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. 1996. *Applied Linear Statistical Models, Fourth Ed.* ed. New York: McGraw-Hill. pp.
- O'Malley KG, Abbey CA, Ross K, Gold JR. 2003. Microsatellite DNA markers for kinship analysis and genetic mapping in red drum, *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae, Teleostei). *Molecular Ecology Notes* 3:155-158.

- Ortíz-Viveros D. 1999. Regulación iónica y osmótica de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* ante cambios de salinidad. In: Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, Baja California, Mexico: Universidad Autónoma de Baja California. p 66.
- Page RDM. 1996. Tree View: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer applications in the biosciences* : CABIOS 12:357-358.
- Palsbøll PJ, Bérubé M, Allendorf FW. 2007. Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology & Evolution* 22:11-16.
- Palstra FP, Ruzzante DE. 2008. Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? *Molecular Ecology* 17:3428-3447.
- Palumbi SR. 1994. Genetic Divergence, Reproductive Isolation, and Marine Speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25:547-572.
- Pauly D. 1980. On the interrelationships between natural mortality, growth parameters, and mean environmental temperature in 175 fish stocks. *Journal du conseil / Conseil international pour l'exploration de la mer* 39:175-192.
- Peakall R, Smouse PE. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539.
- Pedrin-Osuna O, Córdova-Murueta JH, Delgado-Marchena M. 2001. Crecimiento y mortalidad de la totoaba, *Totoaba macdonaldi*, del Alto Golfo de California, INP, SAGARPA, México. *Ciencia Pesquera* 14:131-138.

- Peery MZ, Kirby R, Reid BN, Stoelting R, Doucet-BÉEr E, Robinson S, Vásquez-Carrillo C, Pauli JN, PalsbØLI PJ. 2012. Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Molecular Ecology* 21:3403-3418.
- Peter BM, Wegmann D, Excoffier L. 2010. Distinguishing between population bottleneck and population subdivision by a Bayesian model choice procedure. *Molecular Ecology* 19:4648-4660.
- Piry S, Luikart G, Cornuet JM. 1999. Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in effective population size from allele frequency data. *Journal of Heredity* 90:502-503.
- Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K. 2006. Coda: output analysis and diagnostics for MCMC. *R News* 6:7–11.
- Poulsen NA, Nielsen EE, Schierup MH, Loeschcke V, GrØNkjÆR P. 2006. Long-term stability and effective population size in North Sea and Baltic Sea cod (*Gadus morhua*). *Molecular Ecology* 15:321-331.
- Powles H, Bradford MJ, Bradford RG, Doubleday WG, Innes S, Levings CD. 2000. Assessing and protecting endangered marine species. *ICES Journal of Marine Science* 57:669-676.
- Prince JD, Dowling NA, Davies CR, Campbell RA, Kolody DS. 2011. A simple cost-effective and scale-less empirical approach to harvest strategies. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 68:947-960.
- Pritchard J, Falush D, Stephens M. 2002. Inference of population structure in recently admixed populations. *American Journal of Human Genetics* 71:177-177.

- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Punt AE. 2006. The FAO precautionary approach after almost 10 years: have we progressed towards implementing simulation-tested feedback-control management systems for fisheries management? *Natural Resource Modeling* 19:441-464.
- Quiroz JC, Wiff R, Cubillos LA, Barrientos MA. 2011. Vulnerability to exploitation of the yellownose skate (*Dipturus chilensis*) off southern Chile. *Fisheries Research* 109:225-233.
- R Development Core Team. 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. In: R Foundation for Statistical Computing.
- Raymond M, Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86:248-249.
- Reiss H, Hoarau G, Dickey-Collas M, Wolff WJ. 2009. Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish and Fisheries* 10:361-395.
- Reynolds JD, Dulvy NK, Goodwin NB, Hutchings JA. 2005. Biology of extinction risk in marine fishes. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 272:2337-2344.
- Riccioni G, Landi M, Ferrara G, Milano I, Cariani A, Zane L, Sella M, Barbujani G, Tinti F. 2010. Spatio-temporal population structuring and genetic diversity retention in depleted Atlantic Bluefin tuna of the Mediterranean Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:2102-2107.

- Rice WR. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43:223-225.
- Ricker WE. 1954. Stock and recruitment. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 11:559-623.
- Rikhter VA, Efanov VM. 1976. On one of the approaches to estimation of natural mortality of fish population. *ICNAF, Res. Doc.* 76/VI/8:12.
- Rogers-Bennett L, Leaf RT. 2006. Elasticity analyses of size-based red and white abalone matrix models: management and conservation. *Ecological Applications* 16:213-224.
- Román-Rodríguez M, Hammann GM. 1997. Age and growth of totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Sciaenidae), in the upper Gulf of California. *Fishery Bulletin* 95:620-628.
- Román-Rodríguez MJ. 1990. Alimentación de *Totoaba macdonaldi* (Gilbert) (Pisces:Sciaenidae) en la parte norte del Alto Golfo de California. *Ecológica* 1:1-9.
- Romine J, Musick J, Burgess G. 2009. Demographic analyses of the dusky shark, *Carcharhinus obscurus*, in the Northwest Atlantic incorporating hooking mortality estimates and revised reproductive parameters. *Environmental Biology of Fishes* 84:277-289.
- Rosales-Juárez F, Ramírez-González E. 1987. Estado actual sobre el conocimiento de la totoaba (*Cynoscion macdonaldi*, Gilbert 1890). 1ra ed. México: Secretaría de Pesca. pp.
- Rowell K, Flessa KW, Dettman DL, Román MJ, Gerber LR, Findley LT. 2008a. Diverting the Colorado River leads to a dramatic life history shift in an endangered marine fish. *Biological Conservation* 141:1138-1148.

- Rowell K, True C, Flessa KW, Dettman DL. 2008b. Fish without water: Validation and application of delta O-18 in *Totoaba macdonaldi* otoliths. *Ciencias Marinas* 34:55-68.
- Roy D, Hurlbut TR, Ruzzante DE. 2012. Biocomplexity in a demersal exploited fish, white hake (*Urophycis tenuis*): depth-related structure and inadequacy of current management approaches. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 69:415-429.
- Ruggeri P, Splendiani A, Bonanomi S, Arneri E, Cingolani N, Santojanni A, Belardinelli A, Giovannotti M, Caputo V. 2012. Temporal genetic variation as revealed by a microsatellite analysis of European sardine (*Sardina pilchardus*) archived samples. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 69:1698-1709.
- Ruzzante DE, Taggart CT, Cook D. 1996. Spatial and temporal variation in the genetic composition of a larval cod (*Gadus morhua*) aggregation: cohort contribution and genetic stability. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53:2695-2705.
- Ruzzante DE, Taggart CT, Doyle RW, Cook D. 2001. Stability in the historical pattern of genetic structure of Newfoundland cod (*Gadus morhua*) despite the catastrophic decline in population size from 1964 to 1994. *Conservation Genetics* 2:257-269.
- Saillant E, Gold JR. 2006. Population structure and variance effective size of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in the northern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin* 104:136-148.

- Sambrook J, Russell DW. 2001. Molecular cloning a laboratory manual, 3rd ed. ed: Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp.
- Schlötterer C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite ADN. *Chromosoma* 109:365-371.
- Secor DH. 1999. Specifying divergent migrations in the concept of stock: the contingent hypothesis. *Fisheries Research* 43:13-34.
- Secor DH. 2010. Is otolith science transformative? New views on fish migration. *Environmental Biology of Fishes* 89:209-220.
- Selkoe KA, Toonen RJ. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9:615-629.
- Smith PJ, Francis RICC, McVeagh M. 1991. Loss of genetic diversity due to fishing pressure. *Fisheries Research* 10:309-316.
- Sparre P, Vennema SC. 1995. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. In: Documento Técnico de Pesca. Roma: FAO. p 420.
- Spielman D, Brook BW, Frankham R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:15261-15264.
- Storz JF, Beaumont MA. 2002. Testing for genetic evidence of population expansion and contraction: an empirical analysis of microsatellite DNA variation using a hierarchical Bayesian model. *Evolution* 56:154-166.
- Sunnucks P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution* 15:199-203.

- Tallmon DA, Koyuk A, Luikart G, Beaumont MA. 2008. ONeSAMP: a program to estimate effective population size using approximate Bayesian computation. *Molecular Ecology Resources* 8:299-301.
- Therkildsen NO, Hemmer-Hansen J, Hedeholm RB, Wisz MS, Pampoulie C, Meldrup D, Bonanomi S, Retzel A, Olsen SM, Nielsen EE. 2013. Spatiotemporal SNP analysis reveals pronounced biocomplexity at the northern range margin of Atlantic cod *Gadus morhua*. *Evolutionary Applications* 6:690-705.
- Therkildsen NO, Nielsen EE, Swain DP, Pedersen JS. 2010. Large effective population size and temporal genetic stability in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 67:1585-1595.
- Turner TF, Wares JP, Gold JR. 2002. Genetic effective size is three orders of magnitude smaller than adult census size in an abundant, estuarine-dependent marine fish (*Sciaenops ocellatus*). *Genetics* 162:1329-1339.
- Valdez-Muñoz C, Aragón-Noriega EA, Ortega-Rubio A, Salinas-Zavala CA, Arreola-Lizárraga JA, Hernández-Vázquez S, Beltrán Morales LF. 2010. Distribución y abundancia de juveniles de Totoaba *Totoaba macdonaldi* y la salinidad del hábitat de crianza. *Interciencia* 35:136-139.
- Valenzuela-Quiñonez F, García-de-León F, De-Anda-Montañez J, Balart EF. 2011. La totoaba del Golfo de California ¿Una especie en peligro de extinción? *Interciencia* 36:664-671.

- Valenzuela-Quiñonez F, Garza JC, De Anda Montañez J, García-De León FJ. en prensa. Inferring past demographic changes in collapsed and critically endangered fish. ICES Journal of Marine Science.
- Waples RS. 2006. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. *Conservation Genetics* 7:167-184.
- Waples RS, 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* 3:244-262.
- Waples RS, Gaggiotti O. 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology* 15:1419-1439.
- Waples RS, Yokota M. 2007. Temporal estimates of effective population size in species with overlapping generations. *Genetics* 175:219-233.
- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-1370.
- Williamson-Natesan E. 2005. Comparison of methods for detecting bottlenecks from microsatellite loci. *Conservation Genetics* 6:551-562.
- Wirth T, Bernatchez L. 2003. Decline of North Atlantic eels: a fatal synergy? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:681-688.
- Worm B, Hilborn R, Baum JK, Branch TA, Collie JS, Costello C, Fogarty MJ, Fulton EA, Hutchings JA, Jennings S, Jensen OP, Lotze HK, Mace PM, McClanahan TR,

- Minto C, Palumbi SR, Parma AM, Ricard D, Rosenberg AA, Watson R, Zeller D. 2009. Rebuilding global fisheries. *Science* 325:578-585.
- Wright S. 1930. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97-159.
- Xing S, Shao C, Liao X, Tian Y, Chen S. 2009. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from a dinucleotide-enriched genomic library of spotted maigre (*Nibea albiflora*). *Conservation Genetics* 10:789-791.
- Yasuhara M, Cronin TM, deMenocal PB, Okahashi H, Linsley BK. 2008. Abrupt climate change and collapse of deep-sea ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:1556-1560.
- Zarraonaindia I, Pardo MA, Iriando M, Manzano C, Estonba A. 2009. Microsatellite variability in European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) calls for further investigation of its genetic structure and biogeography. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*.

## 10. ANEXOS

**Anexo I.** Valores multilocus de coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) por localidad, para 16 loci microsatélites y valor de significancia. Valores significativos ( $p < 0.05$ ) se muestran en gris claro y valores significativos después la corrección secuencial de Bonferroni ( $p < 0.0083$ ) se muestran en negritas.

| Localidad  | $F_{is}$ | $p$ -val      |
|------------|----------|---------------|
| <b>ZN</b>  | 0.026    | 0.0271        |
| <b>SSF</b> | 0.021    | 0.0873        |
| <b>SLG</b> | 0.009    | 0.0223        |
| <b>RC</b>  | 0.036    | <b>0.0002</b> |
| <b>BL</b>  | 0.026    | 0.2739        |
| <b>DES</b> | -0.089   | 0.6599        |

**Anexo II.** Valores multilocus de coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) por cohorte, para 16 loci microsatélites y valor de significancia. Valores significativos ( $p < 0.05$ ) se muestran en gris claro y valores significativos después la corrección secuencial de Bonferroni ( $p < 0.0083$ ) se muestran en negritas.

| Cohorte | $F_{is}$ | $p$ -val      |
|---------|----------|---------------|
| 2009    | -0.0588  | 0.8215        |
| 2008    | 0.0855   | <b>0.0000</b> |
| 2007    | 0.0133   | 0.2104        |
| 2006    | -0.0076  | 0.0702        |
| 2005    | 0.0364   | 0.0251        |
| 2004    | 0.0115   | 0.6020        |
| 2003    | 0.0223   | 0.4782        |

**Anexo III.** Artículos publicados.

**Valenzuela-Quiñonez F**, García-de-León F, De-Anda-Montañez J, Balart EF (2011) La totoaba del Golfo de California ¿Una especie en peligro de extinción? *Interciencia* 36:664-671

**Valenzuela-Quiñonez F**, Garza JC, De-Anda-Montañez JA, García-de-León FJ (2014) Inferring past demographic changes in a critically endangered marine fish after fishery collapse. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*

---

# LA TOTOABA DEL GOLFO DE CALIFORNIA ¿UNA ESPECIE EN PELIGRO DE EXTINCIÓN?

FAUSTO VALENZUELA-QUIÑONEZ,  
FRANCISCO JAVIER GARCÍA-DE-LEÓN,  
JUAN ANTONIO DE-ANDA-MONTAÑEZ  
y EDUARDO F. BALART

---

## RESUMEN

Una especie es considerada en peligro crítico de extinción cuando su existencia a nivel global se encuentra al borde de desaparición en el medio natural. La decisión de incorporar a una especie a la lista de especies en peligro de extinción requiere de considerable atención y del consenso de especialistas en su grupo biológico. En esta revisión se analizan algunos criterios para evaluar las categorías de amenaza y su aplicabilidad a recursos pesqueros. En particular, se describe el caso de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*), la primera especie marina incluida en las listas de especies en peligro, y sobre la que existe una fuerte controversia acerca de su estado de conservación. Se analizan los fundamentos que fueron empleados para determinar si la especie está en peligro de extinción, y se re-

visan los factores que afectaron y afectan la permanencia de la totoaba en el Golfo de California. De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada se deduce que a pesar de la drástica disminución poblacional por la sobreexplotación en el siglo pasado, la totoaba ha soportado la degradación de hábitat, pesca furtiva y pesca incidental. Sin embargo, se desconoce su estado de conservación actual y los efectos del mal manejo del ecosistema y la sobrepesca en la resiliencia de la población. La falta de información dificulta establecer estrategias de conservación y manejo adecuadas a las condiciones actuales, por lo que se insiste en la necesidad de realizar estudios que permitan conocer el actual estado de conservación de la totoaba.

Las principales amenazas para las poblaciones de peces son la pesca no controlada (sobreexplotación) y la degradación de hábitat (Musick *et al.*, 2000; Dulvy *et al.*, 2003; Reynolds *et al.*, 2005). Las especies con un comportamiento de agregaciones masivas en áreas geográficas limitadas o en periodos específicos tales como el desove (Sala *et al.*, 2003) son altamente vulnerables y pueden estar sujetas a una sobreexplotación a corto plazo, provocando disminuciones

drásticas de las poblaciones e incluso extinciones locales.

En particular, las poblaciones pequeñas están sujetas a un mayor riesgo de extinción en el medio natural debido a su susceptibilidad a eventos estocásticos. Es decir, las especies con poblaciones pequeñas pueden mostrar un alto riesgo de extinción debido a fluctuaciones demográficas causadas por variaciones aleatorias de la tasa de natalidad y mortalidad, a lo cual se le conoce como estocasticidad demográfica (Levitan y

Sewell, 1998). Debido al reducido número de oportunidades para aparearse la probabilidad de endogamia aumenta, lo que puede ocasionar una pérdida de la variabilidad genética y, con esto, bajos niveles de diversidad, ocasionando que mutaciones desfavorables puedan fijarse, provocando impactos negativos en la capacidad adaptativa de las especies.

Desde el punto de vista de la permanencia a largo plazo, el potencial evolutivo de la especie o población bajo condiciones extremas puede

---

**PALABRAS CLAVE / Diversidad Genética / Golfo de California / Riesgo de Extinción / Totoaba /**

Recibido: 30/09/2010. Modificado: 25/08/2011. Aceptado: 29/08/2011.

**Fausto Valenzuela-Quíñonez.** Biólogo Pesquero, Universidad Autónoma de Sinaloa, México. M.C. y Estudiante de doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), México.

**Francisco Javier-García-de-León.** Doctor en Oceanología, Université Méditerranée, Aix Marseille II, Francia. Investigador, CIBNOR, México. Dirección: Laboratorio de Genética para la Conservación, CIBNOR. Mar Bermejo No. 195, Col. Playa palo de Santa Rita. La Paz, Baja California Sur 23090, México. e-mail: fgarciaidl@cibnor.mx

**Juan Antonio de Anda-Montañez.** Doctor en Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Investigador, CIBNOR, México.

**Eduardo Francisco Balart-Páez.** Doctor en Ciencias, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Investigador, CIBNOR, México.

encontrarse seriamente comprometido (Frankham, 2005; Blomqvist *et al.*, 2010). Además, la interacción entre los factores ambientales, demográficos y genéticos puede generar lo que se ha dado a conocer como vértice de extinción (Gilpin y Soulé, 1986; Fagan y Holmes, 2006), que sumerge a la especie en una ruta irreversible hacia la desaparición. Sin embargo, se conoce que la mayoría de los taxa no se dirigen hacia la extinción sin sufrir previamente erosiones en la diversidad genética (Spielman *et al.*, 2004), siendo éste un parámetro de suma importancia en el monitoreo de poblaciones, e ignorarlo podría conducir a la implementación de medidas inapropiadas de conservación y a la subestimación del riesgo de extinción de poblaciones naturales (Frankham, 2005).

Prevenir la extinción de las poblaciones es un objetivo razonable en biología de la conservación, y dado que los niveles de diversidad genética son indicadores de potenciales evolutivos, el mantener la diversidad genética tenderá a reducir la posibilidad de extinción (Frankham, 1995). Así la variación genética ha sido empleada como indicador para identificar poblaciones que han sufrido cuellos de botella o reducciones severas del tamaño efectivo (Spencer *et al.*, 2009). El empleo de técnicas moleculares ha permitido obtener valiosa información sobre la integridad genética de especies en peligro de extinción, revolucionando la investigación en biología de la conservación (Oliveira *et al.*, 2006). La importancia de estudiar los niveles de diversidad genética en poblaciones naturales estriba en entender los efectos de fuerzas evolutivas sobre las frecuencias alélicas: Dichas fuerzas son la deriva, la selección, la migración y las mutaciones, y su conocimiento permite valorar el potencial evolutivo de una especie y, por lo tanto, su permanencia a largo plazo (Frankham, 1995; Couvet, 2000; Allendorf y Ryman, 2002).

Para estimar la variabilidad genética existe toda una variedad de marcadores moleculares, tanto del ADN nuclear como citoplásmico (mitocondrial y/o cloroplástico), que han sido ampliamente utilizados y están disponibles para abordar problemas relacionados con la conservación (Frankham *et al.*, 2004). Aquí, por cuestiones de espacio, solo se hará referencia a los microsátélites, los cuales son marcadores moleculares neutrales que por presentar un elevado polimorfismo, herencia mendeliana, ser abundantes en el genoma y mostrar una elevada tasa de mutación, entre otras características (Jarne y Lagoda, 1996; Schlötterer, 2000; Sunnucks, 2000), resultan ideales para realizar estudios de gené-

tica de poblaciones, estimación de porcentaje de endogamia, efecto de fragmentación de ecosistemas sobre la diversidad genética, determinar los cuellos de botella, la valoración del tamaño efectivo poblacional, etc. (Cornuet y Luikart, 1996; Luikart *et al.*, 1998; Garza y Williamson, 2001; Hoarau *et al.*, 2005; Spencer *et al.*, 2009; White *et al.*, 2010).

Por otro lado, los criterios para catalogar a las especies en peligro de extinción en diferentes categorías de amenaza hacen particular referencia a los aspectos de demografía y distribución geográfica. De tal forma que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) a través de La Comisión de Supervivencia de Especies (SSC por sus siglas en inglés) han creado una serie de categorías de amenaza para la protección de especies biológicas. Estas categorías son 'en peligro crítico', 'en peligro' y 'vulnerable', siendo definidas por los niveles de riesgo en el medio silvestre. A su vez, estas categorías se basan en criterios ecológicos y biogeográficos tales como (IUCN, 2001): a) reducción de la población, b) extensión del rango geográfico, c) poblaciones pequeñas y en disminución, d) poblaciones muy pequeñas en hábitat restringido, y e) análisis cuantitativo (análisis de viabilidad poblacional). Para la mayoría de los peces, tanto marinos como de agua dulce, listados en alguna categoría de amenaza solo se ha usado el primer criterio (reducción poblacional), por el cual una especie se encuentra en peligro crítico si disminuye un 80% durante 10 años o tres generaciones, amenazada si disminuye un 50% en 10 años o tres generaciones, y vulnerable si disminuye un 30% en 10 años o tres generaciones. Si bien este criterio es adecuado para salvaguardar cambios poblacionales rápidos en el corto plazo, sobreestima el riesgo de extinción para la mayoría de las especies de peces marinos, como se verá más adelante (Matsuda *et al.*, 1997; Musick, 1999).

Ante esta situación, la Sociedad Americana de Pesquerías (AFS por sus siglas en inglés) desarrolló una serie de nuevos criterios que toman en cuenta la resiliencia, al igual que sus características de historia de vida, como son la edad de primera madurez, el coeficiente de crecimiento individual ( $k$ ), la fecundidad y la longevidad. Con esto clasifican a los organismos en cuatro escalas de productividad: alta, mediana, baja y muy baja, y cada nivel de productividad es asociado con un valor umbral de disminución poblacional de 99, 95, 85 y 70%, respectivamente. Si la disminución de la población iguala o excede el umbral

para la categoría de productividad determinada se debe listar como vulnerable, y un panel de expertos decidirá si asciende el nivel de amenaza al de amenazada o en peligro, o asigna una categoría menor (Musick *et al.*, 2000).

La experiencia con poblaciones explotadas de peces muestra que existe una relación entre la abundancia del stock y su productividad. Dependiendo del tipo de recurso, la máxima productividad neta se alcanza a cierto nivel de disminución de abundancia del stock, pero si el stock es reducido más allá de ese nivel óptimo, la productividad empieza a disminuir y el stock puede colapsar (Hilborn, 2007). La legislación pesquera, tanto mexicana como de muchos países, exige a la pesca maximizar la captura sustentable, lo cual significa disminuir el stock entre el 20 y 40% con respecto a su biomasa en ausencia de pesca (Hilborn y Walters, 1992). Por lo tanto, la disminución en la abundancia, conforme la pesquería se desarrolla, es una consecuencia inevitable para lograr la producción; sin embargo, esto ha sido visto como un signo de seria preocupación por aquellos interesados principalmente en la abundancia (Hilborn, 2007). Estos argumentos resaltan el hecho que una población no debería ser considerada en peligro de extinción cuando alcanza su máxima productividad neta, a pesar de haberse disminuido la abundancia a niveles que los criterios de la IUCN indican que el recurso estaría en riesgo (Musick, 1999; Reynolds *et al.*, 2005).

Por su parte, la legislación mexicana establecida en la NOM-059-SEMARNAT-2001 (SEMARNAT, 2002) cataloga a las especies en tres categorías: peligro de extinción, (peligro crítico y peligro; IUCN) amenazadas, (vulnerable; IUCN) y protección especial, (preocupación menor; IUCN). Los criterios para designar tales categorías son: a) amplitud de la distribución del taxón en México, b) estado del hábitat con respecto al desarrollo natural del taxón, c) vulnerabilidad biológica intrínseca del taxón, y d) impacto de la actividad humana sobre el taxón. Cada uno de estos criterios cuenta con valores del 1 al 3, y si la sumatoria del puntaje de cada criterio corresponde entre 12 y 14 puntos, la especie será catalogada como en peligro de extinción, mientras que si suma entre 10 y 11 puntos se considerará como amenazada. Si bien existe una cierta similitud en la definición de las categorías de la legislación mexicana con las de la IUCN, los criterios de evaluación son diferentes. A excepción del primer criterio, donde la métrica es el porcentaje de ocupación del territorio nacional, los otros criterios ca-

recen de valores de referencia para medir objetivamente el nivel de amenaza, ya que solo se dan estimaciones cualitativas. En cambio, los criterios establecidos tanto por la IUCN como la AFS establecen valores puntuales para cada categoría. Idealmente, las categorías de riesgo deberían indicar la probabilidad que una especie llegue a extinguirse en un tiempo determinado (Mace y Lande, 1991). Esto requiere definiciones explícitas que no incluyan elementos subjetivos. De otra forma, las evaluaciones hechas por diferentes personas pueden diferir, dejando de una forma arbitraria la interpretación del riesgo de extinción (de Grammont y Cuarón, 2006).

Por otra parte, es importante hacer la distinción entre evaluar el estado de conservación y lo que es una prioridad de conservación. En el primer caso se trata de evaluar el riesgo de extinción de una especie, lo cual debe indicar la probabilidad de que una especie llegue a extinguirse en un tiempo dado si las condiciones de amenaza prevalecen; ésta debe ser estimada mediante una evaluación científica y, por tanto, deberá ser objetiva (Mace y Lande, 1991). En cambio, las prioridades de conservación determinan cual de las especies deben ser protegidas, y en esta definición también se considera el riesgo de extinción (Lamoreux *et al.*, 2003). Establecer las prioridades de conservación es una tarea que cae dentro del ámbito de la política, más que un análisis científico, donde la opinión pública es un factor determinante en la asignación de recursos para la conservación (Czech *et al.*, 1998). Con las prioridades de conservación surgen varios problemas inherentes a la subjetividad humana, siendo las especies carismáticas las que normalmente son las prioritarias para la conservación, a pesar que otras especies que comparten el mismo hábitat y no son carismáticas también se encuentren en peligro de extinción.

Una situación digna de resaltar para el establecimiento de los niveles de riesgo es la falta de criterios genéticos para su definición. Esto resulta paradójico, ya que la permanencia de las especies a largo plazo es dependiente del potencial evolutivo y estos factores están implícitamente incluidos en la determinación de los niveles de riesgo de extinción.

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*, Gilbert 1891) es una especie considerada emblemática, ya que representa



Figura 1. *Totoaba macdonaldi* del Golfo de California (ictiómetro de 60cm).

el primer pez marino a nivel mundial en listado como en riesgo de extinción; sin embargo, las bases científicas en que se sustenta su estado de conservación ac-

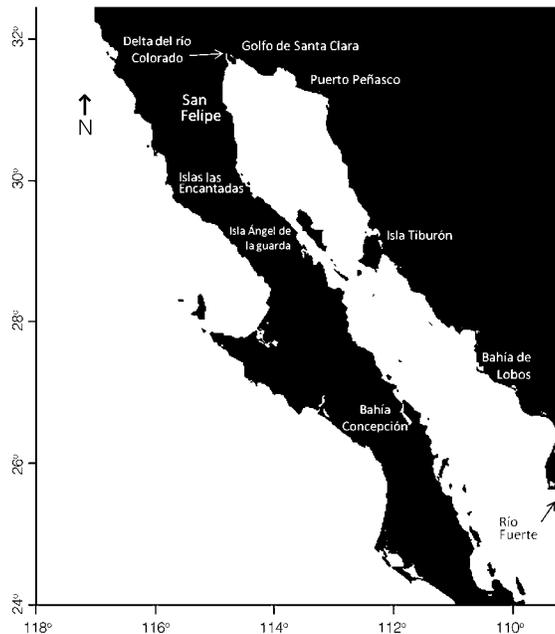


Figura 2. Golfo de California se muestran las áreas distribución de *Totoaba macdonaldi*.

tual, en nuestra opinión, permanece ambigua debido a la falta de información actualizada. Esta situación resulta paradójica, ya que los pescadores que viven en contacto directo y cotidiano con el recurso aseguran que la especie se ha recuperado, y si así fuera se necesitaría un cambio en su estado de conservación; no obstante, en el estatus legal permanece enlistada como en riesgo de extinción. De aquí surgen algunas preguntas que tienen que ver con la gestión del recurso: ¿La especie se encuentra realmente en peligro de extinción?, y por lo tanto ¿Cuál debería ser el estado de conservación actual de totoaba? Es claro que las respuestas a estas preguntas requieren de un profundo análisis crítico de la situación tanto actual como pasada, para buscar evidencias

que permitan describir la realidad, sin posiciones dogmáticas o morales, acerca de un recurso que no ha sido técnicamente estudiado desde que se enlistó como en peligro de extinción. Es necesario generar información científica para precisar su estado de conservación en el corto y largo plazo.

## Historia General

La totoaba es un pez endémico del Golfo de California (Figura 1) y una de las especies más grandes de la familia Sciaenidae, llegando a medir 2m de largo y pesar más de 100kg (Flanagan y Hendrickson, 1976).

La distribución original de la totoaba (Jordan y Evermann, 1896) es considerada desde la desembocadura del río Colorado hasta Bahía Concepción en la costa oeste del Golfo, y hasta la boca del río Fuerte en el este (Figura 2). Sin embargo, actualmente se le supone restringida a la zona del Alto Golfo de California (CITES, 2010). En la literatura revisada (Flanagan y Hendrickson, 1976; Arvizu y Chávez, 1972; Cisneros-Mata *et al.*, 1995, 1997) se menciona que esta especie presenta un patrón de migración ontogénico, donde los adultos migran para la reproducción al delta del río Colorado en el Alto Golfo de California (AGC) durante invierno-primavera, por lo que dicha área es reconocida como el área de desove y crianza. Los juveniles permanecen en el AGC entre dos y tres años, y posteriormente migran al sur por la parte continental y regresan al área de desove y crianza para reproducirse. Los juveniles se alimentan de anfípodos y otros crustáceos bentónicos, además de juveniles de peces como

el chano, lisa, y gruñón, y peces adultos como góbidos, mientras que los adultos prefieren presas más grandes y pelágicas como sardinias, anchovetas y jaibas (Bergdegué, 1955; Arvizu y Chávez, 1972; Cisneros-Mata *et al.*, 1995). Sus características de historia de vida ubican a esta especie como un organismo vulnerable debido a su alta longevidad, ya que llega a vivir más de 20 años y presenta madurez sexual tardía entre 6 y 7 años (Cisneros-Mata *et al.*, 1995).

La pesquería de totoaba se estableció antes de la década de 1920, como respuesta a la demanda cada vez más elevada del buche (vejiga gaseosa) por la población china de oriente y la residente en San Francisco, California (Craig, 1926; Chute, 1928). La delicada

carne de la totoaba fue un subproducto inicialmente, ya que el buche podía alcanzar un precio de US\$ 5 mientras el del resto del pez solo llegaba a US\$ 2 (Chute, 1928). Esta fue la primera y más importante pesquería en el Golfo de California a inicios del siglo pasado. Su captura aumentó hasta alcanzar un máximo histórico en 1942 con 2261ton (Figura 3), y posteriormente fue disminuyendo (280ton en 1958) hasta alcanzar un mínimo de 59ton en 1975 (Arvizu y Chávez, 1972; Rosales-Juárez y Ramírez-González, 1987).

La población de totoaba pasó por todas las etapas de desarrollo de una pesquería (Hilborn y Walters, 1992), hasta llegar al colapso. Posteriormente la especie fue catalogada como en peligro de extinción debido a la fuerte disminución en las capturas provocadas por factores tanto antropogénicos como naturales (Flanagan y Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Lercari y Chávez, 2007). La respuesta del gobierno mexicano ante esta situación fue la declaración de una veda permanente en 1975 (Flanagan y Hendrickson, 1976). En 1976 la totoaba fue listada por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES por sus siglas en inglés) en su apéndice I como en peligro de extinción (ver CITES, 2010). En 1979 el Servicio Nacional de Pesquerías Marinas de los EEUU la incorporó a la lista de especies amenazadas bajo el registro federal 44(99): 29478-29480 (Barrera-Guevara, 1990). Actualmente (IUCN, 2001) se encuentra catalogada como 'en peligro crítico' en la lista roja de la IUCN (ver 3.1, 2001; bajo los criterios de la versión 2.4).

### Causas de la Disminución de la Población y Estado de Conservación

¿Qué argumentos científicos sostienen que la totoaba se encuentra aún en el estado de peligro de extinción? y ¿Cuál es la condición actual de la especie después de casi 35 años de protección legal? A continuación se revisarán los aspectos biológicos que fueron tomados en cuenta cuando se estableció el estatus de conservación de la especie.

Durante el proceso de evaluación de la pesquería se realizó un intento por conocer las causas de la drástica disminución de la abundancia de la totoaba. En los estudios realizados con esos fines se plantearon varias hipótesis para explicar la disminución de la población: la sobrepesca, la degradación de hábitat de desove y crianza (Flanagan y Hendrickson, 1976), así como la pesca incidental y furtiva (Cisneros-Mata *et al.*, 1995).

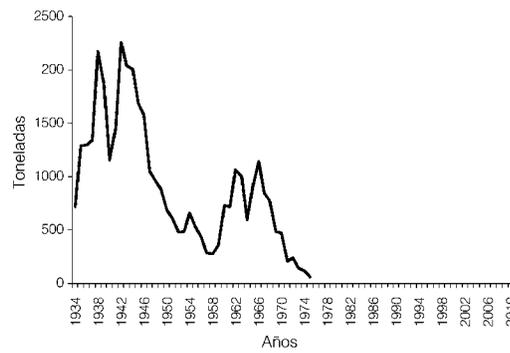


Figura 3. Serie histórica de capturas de totoaba (Arvizu y Chávez, 1979).

### Sobrepesca

Según la literatura revisada, una de las principales causas de la disminución de la población de totoaba fue la sobrepesca ejercida por más de 50 años, primariamente por la flota artesanal y secundariamente por la flota deportiva. La pesca artesanal utilizaba principalmente redes agalleras de 100-200m de longitud, por 7m de ancho y una malla de 25cm, construidas de hilo nylon, las cuales se utilizaban durante la migración reproductiva de la totoaba hacia el delta del río Colorado, de enero a marzo, al norte del Golfo de California, época cuando la totoaba era altamente vulnerable por la densidad de las agregaciones (Berdegúe, 1955; Flanagan y Hendrickson, 1976; Arvizu y Chávez, 1972). Parte de la flota camaronera también participó en las capturas de totoaba, ya sea como fauna de acompañamiento, generalmente capturando juveniles llamados localmente 'machorros', o como especie objetivo utilizando redes agalleras. En el lado peninsular del Alto Golfo, la flota deportiva también incluyó a la totoaba entre las especies codiciadas, capturando grandes organismos durante la migración reproductiva e inmaduros durante el resto de la temporada (Flanagan y Hendrickson, 1976).

Con la intención de regular la actividad pesquera, al inicio existió una veda temporal de cerca de mes y medio, del 20 de marzo al primero de mayo hasta 1955, cuando cambió a ser del primero de abril hasta el 15 de mayo. Buena parte del área de desove (desde la desembocadura del río Colorado, y hacia el sur hasta una línea imaginaria que va de la Bahía de Ometepe, Baja California, a la desembocadura del río Santa Clara, Sonora) fue declarada zona de refugio con prohibición de pesca durante todo el año para la totoaba, camarón y otras especies. Estas medidas no parecían alterar la evolución de la pesquería, ya que las capturas siguieron incremen-

tándose hasta los años 60 para luego declinar rápidamente (Flanagan y Hendrickson, 1976; Arvizu y Chávez, 1979). Es probable que la pesca ilegal en esta zona haya sido de cierta importancia, pero no existe información documentada al respecto. Ante la alarmante disminución de las capturas, el gobierno mexicano declaró la veda permanente en 1975, por lo que es de suponer que el esfuerzo de pesca se redujo considerablemente, permitiendo potencialmente algún síntoma de recuperación. No obstante, la pesca furtiva nunca ha cesado desde entonces, y

solo se cuentan con cifras aproximadas de mediados de los años 80 (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). Desde el periodo de veda que abarca de los años 70 hasta la actualidad no se han generado datos que permitan conocer los niveles de abundancia, lo cual sería de suma importancia para evaluar el estado del recurso. Un aspecto básico que también se desconoce es si la drástica reducción de abundancia erosionó la diversidad genética hasta niveles críticos. A pesar de ello, y basado en observaciones de campo y modelos teóricos, algunos autores piensan que la totoaba muestra signos de recuperación. Por ejemplo, en febrero 1978 se capturó, a bordo de un crucero de investigación, una tonelada de juveniles de totoaba al norte de Isla de Ángel de la Guarda, lo cual fue interpretado como un signo de recuperación (Rosales-Juárez y Ramírez-González, 1987). Sin embargo, esta captura fue puntual y aislada, ya que no se mencionan otras áreas con el mismo éxito. De igual forma, Cisneros-Mata *et al.* (1995) basados en el método de curva de captura que asume que la mortalidad total (Z) refleja la tasa de disminución de la población, y usando información publicada y no publicada, estimaron un aumento en la tasa de sobrevivencia (S) anual de la especie, reportando que para mediados de 1950 el valor de S fue de 0,661/año, y de 0,831/año para 1990. Este incremento en la tasa de sobrevivencia fue considerada como un signo de recuperación reciente de la población.

Otro de los criterios usados para enlistar a una especie en peligro de extinción es la disminución de su rango de distribución geográfica. La ficha técnica de la CITES (CITES, 2010) afirma que el rango de distribución de la totoaba se habría reducido considerablemente en su límite sur hasta la altura de las grandes islas, Ángel de la Guarda y Tiburón (Figura 2). Recientemente, nuestro grupo de trabajo confirmó la presencia de la especie en el sur de Sonora durante la época de invierno, de diciembre

a febrero 2009, a poco más de 200km al sur de la referencia anterior aludida, a la altura del sistema lagunar Algodones-Lobos al sur de Guaymas y cercano al límite sur de su distribución original.

#### *Degradación del hábitat de desove y crianza*

Otra de las hipótesis consideradas para explicar la reducción de la abundancia de la totoaba es la alteración del hábitat asociada a la disminución y prácticamente cese del flujo de agua del Río Colorado, debido a la construcción de represas y proyectos de irrigación en los EEUU (represa Hoover terminada en 1935; represa Glen Canyon terminada en 1963). Dicho represamiento de las aguas del Río Colorado cambió las condiciones estuarinas en el extremo norte del Golfo de California. Algunos de esos cambios incluyen la disminución en los nutrientes y sedimentos aportados por el río (Pitcher *et al.*, 2005). De acuerdo a esta hipótesis, el cambio de salinidad se relaciona con las tasas de sobrevivencia de las crías, ya que éstas requieren de aguas salobres para desarrollarse (Berdegué, 1955; Hendrickson, 1979), por lo que la totoaba es considerada como una especie anádroma. Flanagan y Hendrickson (1976) encontraron una correlación negativa entre el flujo del río y la captura de organismos 9 años después, sugiriendo una afectación del reclutamiento que ocurre entre los 6 y 10 años de edad, pero descartaron la dependencia fisiológica al agua salobre de las larvas, como fue planteada por Berdegué, (1955) y Hendrickson, (1979). Flanagan y Hendrickson (1976) concluyeron que los efectos adversos debidos a cambios de salinidad deben operar de una manera relativa pero no absoluta. Por otro lado, existen evidencias de que los juveniles de totoaba que habitaron en aguas estuarinas antes del represamiento del Río Colorado tuvieron una tasa de crecimiento mayor que aquellas que lo hicieron después del cese del flujo de agua, aunque los mecanismos subyacentes aun son escasamente conocidos (Rowell *et al.*, 2008).

El impacto negativo del decremento del flujo del Río Colorado en la totoaba parece ser un argumento cuestionable. En efecto, bajo la hipótesis de la dependencia al ambiente estuarino, la falta de una área de crianza puede llevar a la extinción a una especie estuarino-dependiente, como sería el caso de la totoaba. Además, esto pudo haber ocurrido hace ya 40 años, desde el cese del flujo (Cisneros-Mata *et al.*, 1995), y sin embargo la totoaba sigue existiendo y usando

las áreas de AGC. Los juveniles de totoaba son capaces de tolerar los cambios sufridos en el ecosistema por la falta de agua del Río Colorado, ya que soportan salinidades entre 11 y 40ups, circunstancia que les permite reproducirse en cautiverio a 34ups, y tolerar condiciones tanto hiposmóticas como hiperosmóticas (Ortiz-Viveros, 1999). La presencia de juveniles de totoaba en el AGC parece estar más relacionada con el tipo de sustrato y la profundidad (Flanagan y Hendrickson, 1976) que con la temperatura o la salinidad (Valdez-Muñoz *et al.*, 2010). Esta información permite confirmar que la totoaba continúa usando el Alto Golfo de California como área de desove y crianza, y dado que no hay un conocimiento profundo sobre los mecanismos fisiológicos de la dependencia a estos ambientes, la estrategia de conservación más adecuada es preservar dicho ambiente para la permanencia de la especie. Lo que es importante resaltar es el grado de desconocimiento sobre los factores que determinan la dependencia de las totoabas a regresar a la desembocadura del Río Colorado y en qué medida la pérdida del flujo constante de agua de dicho río afecta la sobrevivencia de la especie.

#### *Pesca incidental y furtiva*

La pesca incidental de juveniles de totoaba por barcos camaroneros y la pesca furtiva por pescadores artesanales es otra de las hipótesis que han sido propuestas para explicar la disminución de la población. La mortalidad por esta causa se estimó para los años 80 alrededor de 120000 juveniles/año y 161ton de pesca furtiva (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). La pesca incidental pudo haber aumentado debido al incremento del poder de pesca de los barcos camaroneros; sin embargo, con la declaratoria de veda total en el AGC a partir de 1975, se desplegaron fuertes operativos de control y vigilancia por parte del gobierno federal (a través de PROFEPA, Secretaría de Marina y CONANP) en el área de desove y crianza de la totoaba, la que actualmente se sitúa dentro de la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo y Delta del Río Colorado. Esta Reserva, decretada el 10 de junio de 1993, cuenta con un área de 934756ha. Estos operativos han ayudado a proteger la etapa más crítica y vulnerable del ciclo de vida de la totoaba, por lo que si la vigilancia ha sido efectiva se esperarían algún síntoma de mejoría en la población. Sin embargo, la cuantificación de su efecto sobre la población de la totoaba, es un asunto de especulación.

Durante el tiempo que duró la pesquería, la totoaba fue vulnera-

ble a la mortalidad por pesca debido a sus características de historia de vida. Entre ellas se pueden mencionar la capacidad de agregaciones para la reproducción en áreas restringidas (AGC), la captura de organismos inmaduros debido a una madurez sexual tardía entre 6 y 7 años (Flanagan y Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata *et al.*, 1995) y una alta longevidad estimada en ~24 años (Román-Rodríguez y Hamman, 1997), lo que ocasiona que la especie posea una baja tasa de renovación poblacional. Un escenario plausible es que la drástica disminución de la población de totoaba haya sido multi-factorial, pero las variables implicadas o su importancia relativa no pueden ser deducidas con la información histórica disponible (Lercari y Chávez, 2007).

#### **Estado de Conservación**

Como se mencionó, la totoaba fue el primer pez marino listado por la CITES como en peligro de extinción por la drástica disminución en las capturas. Esta inclusión se hizo en una época donde los criterios para evaluar el riesgo de extinción aún no estaban bien establecidos, por lo que al final, los criterios usados debieron ser, en nuestra opinión, parcialmente subjetivos. Entonces la pregunta ¿La totoaba se encuentra aún en peligro de extinción? aún requiere de ser respondida, dado que no se cuenta con datos actualizados para evaluar la pertinencia de los criterios antes señalados. Esto crea la necesidad de generar información acorde a los criterios de evaluación del riesgo de extinción para contar con una visión objetiva del mismo. Paradójicamente, la totoaba se ha convertido en una especie prioritaria de conservación a nivel nacional, a pesar de no existir información científica que respalde tal decisión, y todo parece apuntar que la decisión de mantener a la especie en ese estado de conservación está fundamentada más en argumentos políticos y sociales que sobre una base científica.

En resumen, sea cual fuere la explicación de la disminución poblacional de la totoaba, la realidad es que la especie ha tolerado hasta el momento la alteración del hábitat en las áreas de desove y crianza, la pesca furtiva y la pesca incidental. Esto no había sido señalado previamente, pero el presente análisis bibliográfico obliga a cuestionar la credibilidad de las hipótesis planteadas. Lo que es cierto, es que el actual nivel de conocimiento no permite precisar si la totoaba es una población pequeña o grande, si es una o varias poblaciones, y si aparentemente se ha mantenido estable o no, y en definitiva, si la

población de totoaba se ha recuperado. Ante esta incertidumbre se pueden plantear nuevas hipótesis sobre la condición actual:

*Ho:* Dadas las perturbaciones antropogénicas y naturales que influenciaron la disminución de la población de totoaba, ésta se encuentra en peligro de extinción, y por lo tanto debe permanecer en el actual estado de conservación.

*Ha:* A pesar de las perturbaciones antropogénicas y naturales que influenciaron la disminución de la población de totoaba, la población se encuentra estable y se ha recuperado, y por lo tanto necesita un reexamen de su estado de conservación.

Cabe insistir que la única manera de validar la hipótesis nula es generando información actualizada que permita eliminar la subjetividad del estado de conservación del recurso.

### ¿Porqué es Necesario Reevaluar la Condición de la Totoaba?

La necesidad de reevaluar el estatus de conservación surge por la falta de investigación científica que genere información básica para ponderar los criterios propuestos por organismos tanto nacionales como internacionales. Después de más de 35 años de no estudiar a la totoaba en su medio natural se desconoce el tamaño de la poblacional, la amplitud espacial que la especie ocupa en su área de distribución geográfica natural, atributos poblacionales tales como la edad, crecimiento, talla de primera madurez, fecundidad, y mortalidad, y también se desconocen aspectos importantes para la gestión y conservación tales como si la especie esta constituida por una sola población o existen varias unidades poblacionales independientes, y si la reducción poblacional provocó un cuello de botella trayendo consigo una reducción del potencial evolutivo de la especie.

En la actualidad existe un programa para rehabilitar a la población de totoaba en el medio natural por parte de la Universidad de Baja California, mediante un programa de cultivo: No obstante, no existen datos genéticos y demográficos que permitan valorar el éxito de tales repoblamientos. Se conoce a nivel mundial que existe incertidumbre sobre las prácticas de cultivo para rehabilitar stocks, principalmente debido a que las prácticas de cultivo generalmente usan un reducido número de reproductores como fundadores, lo cual crea un cuello de botella generando una potencial erosión de la variabilidad genética (Aho *et al.*, 2006; Shikano *et al.*, 2008; Araki y Schmid, 2010). Por ello, es urgente de-

terminar los niveles de diversidad genética en la o las poblaciones de totoaba en su ambiente natural y compararla con aquella originada por las actividades de repoblación para determinar el potencial impacto de las prácticas de repoblamiento actuales.

El nivel de conocimiento actual sobre el estado de salud de la totoaba ha impedido la aplicación de los nuevos criterios de evaluación tanto de la IUCN (2001) como de la AFS (Musick, 1999). Además, existe una demanda creciente por parte de los pescadores del AGC para la reapertura de una pesca deportiva y controlada, debido a que la abundancia, según su experiencia empírica, ha incrementado de manera notable en los últimos años, por lo que la pesca deportiva no afectaría negativamente a otra especie también en peligro de extinción, un mamífero marino que cohabita con la totoaba, la vaquita (*Phocoena sinus*). Tras esta demanda del sector pesquero y turístico, el gobierno federal mexicano a través de CONABIO, y la SEMARNAT por medio de la Dirección de Vida Silvestre y de la CONANP (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas), desarrollaron una serie de talleres invitando a autoridades de gobierno federal, estatal y municipal, pescadores artesanales y de la flota deportiva, así como a científicos, para discutir el estado de conservación de la especie. Una de las conclusiones que se alcanzó como consenso en dichas reuniones de trabajo fue que no existe información fidedigna y actualizada que permita conocer el actual estado de conservación.

Aunado a lo anterior, consideramos importante mencionar cómo las nuevas tecnologías pueden complementar el conocimiento biológico para generar estrategias adecuadas de conservación. En particular cabe resaltar que el uso de marcadores moleculares puede auxiliar en la comprensión y aclaración de algunas de las hipótesis planteadas sobre la dinámica de poblaciones de la totoaba. Por ejemplo, el patrón de migración propuesto para esta especie reconoce implícitamente la existencia de una sola población panmíctica (genéticamente homogénea) con un comportamiento filopátrico que le permite a la especie regresar a su zona de reproducción y crianza en el Alto Golfo de California. Asimismo, la drástica disminución de la población sufrida en los años 70 pudo ocasionar una reducción alarmante de la variabilidad genética que comprometa el potencial evolutivo de la especie. La única manera de dar respuesta a estos fenómenos es mediante el uso de marcadores moleculares del ADN tales como los mi-

crosatélites, que pueden ayudar a estimar la magnitud de la erosión de la variabilidad genética ocurrida durante esos años. Para ello se desarrolló una batería de 14 loci microsátélites a partir de una muestra piloto; dichos marcadores mostraron ser altamente informativos ya que mostraron una heterocigosidad de moderada a alta, lo que significa que son apropiados para examinar la estructura poblacional (García de León *et al.*, 2010). El Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en conjunto con investigadores del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN), Centro de Ecología y Desarrollo Sustentable del Estado de Sonora (CEDES), Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada CICESE, Centro Regional de Investigación Pesquera del Instituto Nacional de Pesca (CRIP-INAPESCA) y Conservación del Territorio Insular Mexicano, A.C., con el apoyo de las autoridades competentes de CONANP y sector pesquero artesanal y deportivo, y mediante el financiamiento de CONABIO, Vida Silvestre de la SEMARNAT y CONANP, se encuentra realizando una investigación para abordar la problemática sobre el estado de conservación de la totoaba. En este estudio se están empleando los métodos clásicos de análisis de la dinámica poblacional y otros recientes como la genética molecular e isótopos estables. La información que se genere permitirá sentar las bases para establecer la condición actual de la población. Este ejercicio es una oportunidad tanto para la comunidad científica como para la sociedad en general para comprender el estado de la población de una especie emblemática como la totoaba, *Totoaba macdonaldi*, y ayudará a generalizar perspectivas metodológicas en la evaluación del estatus de conservación para otras especies que se encuentran en la norma oficial mexicana de especies en peligro de extinción (SEMARNAT, 2002).

### Conclusiones

La totoaba es un organismo vulnerable a la sobrepesca por sus características de historia de vida que fue sometida a una fuerte disminución de la población; sin embargo, se desconoce su estado de conservación actual, así como los efectos del mal manejo del ecosistema y sobrepesca sobre la resiliencia de la población. A pesar de la drástica disminución poblacional, resulta evidente que la totoaba ha soportado la degradación de hábitat, pesca furtiva y pesca incidental.

La falta de información actual causa que no se cuente con argumentos sólidos y objetivos para establecer estrategias de conservación y manejo adecuadas a las condiciones actuales, y evita la aplicación de los criterios de riesgo de extinción de las legislaciones nacionales e internacionales, generando incertidumbre, y por lo tanto, discordia entre usuarios y sector gubernamental en cuanto al manejo de la especie.

Es necesario fomentar y apoyar proyectos de investigación que permitan obtener información científica basada en nuevas tecnologías que co-ayuden a entender la dinámica actual y pasada de las especies enlistadas con algún estatus de riesgo tanto por las agencias nacionales como internacionales, para contar con una visión objetiva de su estado de conservación, y por lo tanto, promover medidas de gestión sustentables que permitan responder a las demandas de la sociedad.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores dedican este trabajo a la memoria de José Rafael Campoy Favela, ex-Director de la Reserva del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado, promotor de programas de conservación y manejo sustentables de los recursos del Alto Golfo de California; agradecen a CONABIO, Vida Silvestre de la SEMARNAT y CONANP por el financiamiento del proyecto 'Estado de salud y estatus de conservación de la(s) población(es) de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) en el Golfo de California: una especie en peligro de extinción', y al CIBNOR por el apoyo brindado a través de los proyectos internos EP2, y PC4.2. El primer autor agradece a CONACYT por la beca doctoral otorgada (235142).

#### REFERENCIAS

- Aho T, Rönn J, Piironen J, Björklund M (2006) Impacts of effective population size on genetic diversity in hatchery reared Brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Aquaculture* 253: 244-248.
- Allendorf FW, Ryman N (2002) The role of genetics in population viability analysis. In: Beissinger SR, McCullough DR (Eds.) *Population Viability Analysis*. University of Chicago Press. Chicago, IL; EEUU. pp. 50-85.
- Araki H, Schmid C (2010) Is hatchery stocking a help or harm?: Evidence, limitations and future directions in ecological and genetic surveys. *Aquaculture* 308: S1-S11.
- Arvizu J, Chávez H (1972) *Sinopsis sobre la Biología de la Totoaba Cynoscion macdonaldi Gilbert, 1891*. Fisheries Synopsis N° 108. UN Food and Agriculture Organization, Roma, Italia. 26 pp.
- Barrera-Guevara JC (1990) The conservation of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert), (Pisces: Sciaenidae), in the Gulf of California, México. *J. Fish Biol.* 37: 201-202.
- Berdegú AJ (1955) La pesquería de Totoaba (*Cynoscion macdonaldi*) en San Felipe, Baja California. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 16: 45-78.
- Blomqvist D, Pauliny A, Larsson M, Flodin LA (2010) Trapped in the extinction vortex? Strong genetic effects in a declining vertebrate population. *BMC Evol. Biol.* 10: 33.
- Chute R (1928) The totoaba fishery at the California Gulf. *Calif. Fish Game* 14: 275-281.
- Cisneros-Mata MA, Montemayor-López G, Román-Rodríguez MJ (1995) Life history and conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Cons. Biol.* 9: 806-814.
- Cisneros-Mata MA, Botsford LW, Quinn JF (1997) Projecting viability of *Totoaba macdonaldi*, a population with unknown age-dependent variability. *Ecol. Applic.* 7: 968-980.
- CITES (2010) Review of CITES Appendixes Based on Resolution Conf. 9.24 (Rev.) *Totoaba macdonaldi* (Mexican seabass). Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. México. 10 pp.
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2001-2014.
- Couvet D (2000) Populations réintroduites ou menacées: effets de la consanguinité. *Rev. Ecol. (Terre et Vie)* 7: 129-131.
- Craig JA (1926) A new fishery in Mexico. *Calif. Fish Game* 12: 166-169.
- Czech B, Krausman PR, Borkhataria R (1998) Social construction, political power, and the allocation of benefits to endangered species. *Cons. Biol.* 12: 1103-1112.
- de Grammont PC, Cuarón AD (2006) An evaluation of threatened species categorization systems used on the american continent. *Cons. Biol.* 20: 14-27.
- Dulvy NK, Sadovy Y, Reynolds JD (2003) Extinction vulnerability in marine populations. *Fish Fish.* 4: 25-64.
- Fagan WF, Holmes EE (2006) Quantifying the extinction vortex. *Ecol. Lett.* 9: 51-60.
- Flanagan CA, Hendrickson R (1976) Observations on the commercial fishery and reproductive biology of the Totoaba *Cynoscion macdonaldi* in the northern Gulf of California. *Fish. Bull.* 74: 531-544.
- Frankham R (1995) Conservation genetics. *Annu. Rev. Genet.* 29: 305-327.
- Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biol. Cons.* 126: 131-140.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2004) *Introduction to Conservation Genetics* 4<sup>a</sup> ed. Cambridge University Press. Nueva York, EEUU. 617 pp.
- García de León FJ, Valles-Jiménez R, Shaw K, Ward R, de-Anda-Montañez JA, Martínez-Delgado ME (2010) Characterization of fourteen microsatellite loci in the endemic and threatened totoaba (*Totoaba macdonaldi*) from the Gulf of California. *Cons. Genet. Resour.* 2: 219-221.
- Garza JC, Williamson EG (2001) Detecting reduction in population size using data from microsatellite loci. *Mol. Ecol.* 10: 305-318.
- Gilpin ME, Soulé ME (1986) Minimum viable populations: processes of extinction. En Soulé ME (Ed.) *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer. Sunderland, MA, EEUU. pp. 19-34.
- Hendrickson JR (1979) Totoaba: Sacrifice in the Gulf of California. *Ocean. Soc.* 12: 14-28.
- Hilborn R (2007) Reinterpreting the state of fisheries and their management. *Ecosystems* 10: 1362-1369.
- Hilborn R, Walters CJ (1992) *Quantitative Fisheries Stock Assessment: Choice, Dynamics and Uncertainty*. Chapman and Hall. Nueva York, EEUU. 570 pp.
- Hoarau G, Boon E, Jongma DN, Ferber S, Pals-son J, Van der Veer HW, Rijnsdorp AD, Stam WT, Olsen JL (2005) Low effective population size and evidence for inbreeding in an overexploited flatfish, plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Proc. Roy. Soc. B: Biol. Sci.* 272: 497-503.
- IUCN (2001) *Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Ver. 3.1. International Union for Conservation of Nature*. Gland, Suiza. 32 pp.
- Jarne P, Lagoda PJJ (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11: 424-429.
- Jordan DS, Evermann BW (1896) *The Fishes of the North and Middle America*. US National Museum Bulletin N° 47. 1240 pp.
- Lamoreux J, Resit Akçakaya H, Bennun L, Collar NJ, Boitani L, Brackett D, Bräutigam A, Brooks TM, da Fonseca GAB, Mittermeier RA, Rylands AB, Gärdenfors U, Hilton-Taylor C, Mace G, Stein BA, Stuart S (2003) Value of the IUCN Red List. *Trends Ecol. Evol.* 18: 214-215.
- Lercari D, Chávez EA (2007) Possible causes related to historic stock depletion of the totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Perciformes: Sciaenidae), endemic to the Gulf of California. *Fish. Res.* 86: 136-142.
- Leviton DR, Sewell MA (1998) Fertilization success in free-spawning marine invertebrates: review of the evidence and fisheries implications. En Jamieson GS, Campbell A, (Eds.) *Canadian Special Publication in Fisheries and Aquatic Science* N° 125. pp. 159-164.
- Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB (1998) Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *J. Hered.* 89: 238-247.
- Mace GM, Lande R (1991) Assessing extinction threats: toward a reevaluation of IUCN threatened species. *Cons. Biol.* 5: 148-157.
- Matsuda H, Yahara T, Ouzumi Y (1997) Is tuna critically endangered? Extinction risk of a large and overexploited population. *Ecol. Res.* 12: 345-356.
- Musick JA (1999) Criteria to define extinction risk in marine fishes. *Fisheries* 24: 6-14.
- Musick JA, Harbin MM, Berkeley SA, Burgess GH, Eklund AM, Findley L, Gilmore RG, Golden JT, Ha DS, Huntsman GR, McGovern JC, Parker SJ, Poss SG, Sala E, Schmidt TW, Sedberry GR, Weeks H, Wright SG (2000) Marine, Estuarine, and Diadromous Fish Stocks at Risk of Extinction in North America (Exclusive of Pacific Salmonids). *Fisheries* 25: 6-30.
- Oliveira EJ, Pádua JG, Zucchi MI, Vencovsky R, Vieira MLC (2006) Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genet. Mol. Biol.* 29: 294-307.

- Ortiz-Viveros D (1999) *Regulación Iónica y Osmótica de los Juveniles de Totoaba macdonaldi ante Cambios de Salinidad*. Universidad Autónoma de Baja California. 66 pp.
- Pitcher TJ, Ainsworth CH, Bucharly EA, Cheung WI, Forrest R, Haggan N, Lozano H, Morato T, Morissette L (2005) Strategic management of marine ecosystems using whole-ecosystem simulation modelling: The 'back to the future' policy approach. En Levner E, Linkov I, Proth JM (Eds.) *Strategic Management of Marine Ecosystems*. Springer Holanda. pp. 199-258.
- Reynolds JD, Dulvy NK, Goodwin NB, Hutchings JA (2005) Biology of extinction risk in marine fishes. *Proc. Roy. Soc. B-Biol. Sci.* 272: 2337-2344.
- Román-Rodríguez M, Hammann GM (1997) Age and growth of totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Sciaenidae) in the upper Gulf of California. *Fish. Bull.* 95: 620-628.
- Rosales-Juárez F, Ramírez-González E (1987) *Estado Actual sobre el Conocimiento de la Totoaba* (*Cynoscion macdonaldi*, Gilbert 1890). 1ª ed. Secretaría de Pesca. México. 42 pp.
- Rowell K, Flessa KW, Dettman DL, Román MJ, Gerber LR, Findley LT (2008) Diverting the Colorado River leads to a dramatic life history shift in an endangered marine fish. *Biol. Cons.* 141: 1138-1148.
- Sala E, Aburto-Oropeza O, Paredes G, Thompson G (2003) Spawning aggregations and reproductive behavior of reef fishes in the Gulf of California. *Bull. Mar. Sci.* 72: 103-121.
- Schlötterer C (2000) Evolutionary dynamics of microsatellite ADN. *Chromosoma* 109: 365-371.
- SEMARNAT (2002) *Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 Protección Ambiental -Especies Nativas de México Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista de Especies en Peligro*. Diario Oficial de la Federación. México. 153 pp.
- Shikano T, Shimada Y, Suzuki H (2008) Comparison of genetic diversity at microsatellite loci and quantitative traits in hatchery populations of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Biol.* 72: 386-399.
- Spencer CC, Neigel JE, Leberg PL (2009) Experimental evaluation of the usefulness of microsatellite DNA for detecting demographic bottlenecks. *Mol. Ecol.* 9: 1517-1528.
- Spielman D, Brook BW, Frankham R (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101:15261-15264.
- Sunnucks P (2000) Efficient genetic markers for population biology. *Trends Ecol. Evol.* 15: 199-203.
- Valdez-Muñoz C, Aragón-Noriega EA, Ortega-Rubio A, Salinas-Zavala CA, Arreola-Lizárraga JA, Hernández-Vázquez S, Beltrán Morales LF (2010) Distribución y abundancia de juveniles de *Totoaba macdonaldi* y la salinidad del hábitat de crianza. *Interciencia* 35:136-139.
- White TA, Stamford J, Hoelzel AR (2010) Local selection and population structure in a deep-sea fish, the roundnose grenadier (*Coryphaenoides rupestris*). *Mol. Ecol.* 19: 216-226.

## THE 'TOTOABA' FROM THE GULF OF CALIFORNIA: A SPECIES IN DANGER OF EXTINTION?

Fausto Valenzuela-Quiñonez, Francisco Javier García-de-León, Juan Antonio de-Anda-Montañez and Eduardo F. Balart

### SUMMARY

*A species is considered as critically endangered when its global existence is close to wildlife extinction. The decision to list a species as an endangered one requires attention and overall consensus among specialist in its biological group. This review analyzes some criteria to assess endangered categories and their applicability to fishery resources. As a specific case, the current status of the 'totoaba' (*Totoaba macdonaldi*) is described. It was the first fish listed as endangered and there is a strong controversy about its current conservation status. The scientific bases to list this species as endangered are discussed, and the factors that affected and still affect its permanence in*

*the Gulf of California are revised. The study of the available literature shows that, in spite of the past strong totoaba population depletion, it has been able to support overexploitation, habitat change, poaching and catch fishery. However, the current conservation status, as well as ecosystem and overfishing effects on population resilience, are unknown. The establishment of conservation and management strategies is not possible at present, given the lack of knowledge that prevails. Thus, specific research is required in order to know the current conservation status of totoaba.*

## A TOTOABA DO GOLFO DE CALIFÓRNIA. UMA ESPÉCIE EM PERIGO DE EXTINÇÃO?

Fausto Valenzuela-Quiñonez, Francisco Javier García-de-León, Juan Antonio de-Anda-Montañez, e Eduardo F. Balart

### RESUMO

*Uma espécie é considerada em perigo crítico de extinção quando sua existência a nível global se encontra ao borde de desaparecimento no meio natural. A decisão de incorporar uma espécie na lista de espécies em perigo de extinção requer de considerável atenção e do consenso de especialistas no seu grupo biológico. Nesta revisão são analisados alguns critérios para avaliar as categorias de ameaça e sua aplicabilidade a recursos pesqueiros. Em particular, se descreve o caso da totoaba (*Totoaba macdonaldi*), a primeira espécie marinha incluída nas listas de espécies em perigo, e sobre a que existe uma forte controvérsia sobre seu estado de conservação. São analisados os fundamentos empregados para determinar se a espécie está em perigo*

*de extinção, e são revisados os fatores que afetaram e afetam a permanência da totoaba no Golfo de Califórnia. De acordo à revisão bibliográfica realizada se deduz que apesar da drástica diminuição populacional pela sobre-exploração no século passado, a totoaba tem suportado a degradação de hábitat, pesca furtiva e pesca incidental. No entanto, se desconhece seu estado de conservação atual e os efeitos pelo manejo indevido do ecossistema e a pesca em excesso durante a resiliência da população. A falta de informação dificulta estabelecer estratégias de conservação e manejo adequadas para as condições atuais, pelo que se insiste na necessidade de realizar estudos que permitam conhecer o atual estado de conservação da totoaba.*



## Inferring past demographic changes in a critically endangered marine fish after fishery collapse

Fausto Valenzuela-Quiñonez<sup>1,2</sup>, John Carlos Garza<sup>3</sup>, Juan A. De-Anda-Montañez<sup>2</sup>, and Francisco J. García-de-León<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética para la Conservación, Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste, Calle IPN #195, La Paz, BCS 23096, Mexico

<sup>2</sup>Laboratorio de Modelación y Bioeconomía Pesquera, Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste, Calle IPN #195, La Paz, BCS 23096, Mexico

<sup>3</sup>Southwest Fisheries Science Center, National Oceanic and Atmospheric Administration, 110 Shaffer Road, Santa Cruz, CA 95060, USA

\*Corresponding author: tel: +52 612 123 8484; fax: +52 612 125 3625; e-mail: [fgarciadl@cibnor.mx](mailto:fgarciadl@cibnor.mx)

Valenzuela-Quiñonez, F., Garza, J. C., De-Anda-Montañez, J. A., and García-de-León, F. J. Inferring past demographic changes in a critically endangered marine fish after fishery collapse. – ICES Journal of Marine Science, doi: 10.1093/icesjms/fsu058.

Received 11 June 2013; revised 4 March 2014; accepted 5 March 2014.

Several worldwide marine fish stocks need to recover from collapse or overexploitation. However, the effects of a fishery collapse at the genetic level are still largely unknown, as is the extent of reduction in genetic diversity caused by fisheries and the consequences for extinction risk. Here we present a case study of totoaba, the first marine fish considered as critically endangered. We assessed 16 microsatellite loci to determine whether the demographic collapse of the species resulted in a loss of genetic diversity. Our data indicate that genetic diversity of totoaba is in the range of values observed for fish with similar biological traits without a documented fishery collapse. Contemporary demographic analysis indicated no loss of genetic diversity. Long-term genealogical analysis showed a substantial reduction in effective population size. However, the time and causal effects for population decline cannot be inferred because of the large uncertainty in estimates. Our results indicate that the totoaba in the Gulf of California has not suffered a measurable contemporary reduction in genetic diversity, and that genetic diversity is driven by long-term climatic events. Estimates of current effective size indicate that it is large enough that genetic factors may not be a major problem for conservation. We conclude that the recent fishery collapse of totoaba did not have sufficient consequences at the genetic level to increase the risk of extinction from genetic drift. However, selective effects of fishing on the adaptive potential in totoaba remain unclear.

**Keywords:** critically endangered, demographic history, effective population size, evolutionary potential, fishery collapse, microsatellites, *Totoaba macdonaldi*.

### Introduction

Marine fish populations exhibit a broad range of responses to fishing pressure, which can involve several levels of biological organization, from biomass reduction to genetic consequences (Hilborn and Walters, 1992; Enberg *et al.*, 2009), and many marine fish stocks have collapsed, presumably as a result of overexploitation (Worm *et al.*, 2009; Costello *et al.*, 2012). However, the effects of fishery collapse on genetic diversity have been poorly documented, and it is not clear whether fisheries can reduce genetic variability so much so that they lead to extinction. Many collapsed stocks have failed to recover, and the mechanisms for limited recovery (genetic or ecological factors) are unclear (Hutchings, 2000; Enberg *et al.*, 2009). Several studies have reported loss of genetic diversity for collapsed and over-exploited stocks of marine fish (Smith *et al.*, 1991; Hauser *et al.*, 2002; Hutchinson *et al.*, 2003; Hoarau *et al.*, 2005; Ruggeri *et al.*, 2012), whereas other studies did not detect a loss of diversity

(Ruzzante *et al.*, 2001; Poulsen *et al.*, 2006; Therkildsen *et al.*, 2010; Chapman *et al.*, 2011; Cuveliers *et al.*, 2011). These results imply that a fishery collapse does not necessarily reduce genetic variability measurably at neutral markers, and underscore the importance of understanding the evolutionary history of marine species to ensure long-term conservation. However, fishery management regulations are usually formulated for short periods and ignore evolutionary principles (Hauser and Carvalho, 2008; Reiss *et al.*, 2009; Lankau *et al.*, 2011), even though the effects of reductions of genetic diversity after fishery collapse are unclear (Therkildsen *et al.*, 2010).

A practical way to integrate genetic information into fishery management is to monitor effective population size ( $N_e$ ). This is one of the most important parameters in evolutionary biology because it determines the level of genetic variation that can be maintained and provides insight into the risk of extinction and long-term evolutionary potential (Frankham, 2005; Charlesworth, 2009).

As such, genetic diversity and  $N_e$  can be used as a proxy for the level of threat in fish with limited data available for a full stock assessment (Spielman *et al.*, 2004; Palstra and Ruzzante, 2008; Hare *et al.*, 2011).

Long-term genetic monitoring programs can provide information on population status, as well as insights into how population genetic diversity responds to fishery pressure, if tissue samples are taken and archived (Ruzzante *et al.*, 2001; Hoarau *et al.*, 2005; Therkildsen *et al.*, 2010, 2013a); however, archived samples are unavailable for most marine species. Fortunately, there are several methods available for using molecular genetic data from contemporary samples to infer past fluctuations in  $N_e$  (Luikart *et al.*, 1998; Beaumont, 1999; Garza and Williamson, 2001; Storz and Beaumont, 2002; Cornuet *et al.*, 2008). Many of these methods provide inference at different temporal scales, which can potentially be used to distinguish between contemporary population reduction and natural long-term cycles (Wirth and Bernatchez, 2003; Karlsson *et al.*, 2009). This information about past and current levels of  $N_e$  can then be used in management actions (Peter *et al.*, 2010; Hare *et al.*, 2011; Lankau *et al.*, 2011).

Totoaba (*Totoaba macdonaldi*) is the largest fish in the family Sciaenidae and is endemic to the Gulf of California (Chute, 1928). It is distributed from the mouth of the Colorado River to the mouth of the Río Fuerte along the eastern coastline of the Gulf, and from the mouth of the Colorado River to Bahía Concepción on the west coast of the Gulf (Figure 1) (Arvizu and Chávez, 1972). Despite this distribution, totoaba is more common during the breeding season in the Upper Gulf and is only occasionally observed in the rest of its distribution range. Totoaba is considered an estuarine spawner and historically spawned primarily in the estuary of the Colorado River, which was desiccated in the middle of the last century, after it was dammed. However, the totoaba appears to not be completely dependent upon estuarine conditions, as the species still spawns in the same general vicinity, even though

non-estuarine conditions prevail (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Bobadilla *et al.*, 2011; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011).

Totoaba was also the target of an important fishery, which collapsed shortly after the damming of the Colorado River. Fishery records indicate that the catch of totoaba reached 2000 t in 1940 but decreased to 52 t by 1975. This prompted the Mexican Government to completely close the fishery (Cisneros-Mata *et al.*, 1995). A year earlier (1974), a reserve zone, in which all fishing activities were prohibited, was established at the mouth of the Colorado River (Flanagan and Hendrickson, 1976; Rosales-Juárez and Ramírez-González, 1987). Illegal and unreported catches continued, however, and the Mexican Government designated the totoaba estuarine habitat as a Biosphere Reserve in 1993. Since the totoaba fishery was closed in 1975, no formal demographic studies or catch records are available (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Lercari and Chavez, 2007; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011). Some combination of loss of habitat and overfishing caused a steep demographic decline (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Flanagan and Hendrickson, 1976), and totoaba was the first marine fish listed as critically endangered under CITES Appendix I in 1976 and was also listed as endangered under the US Endangered Species Act in 1979 (Barrera-Guevara, 1990; CITES-UNEP, 2011). More recently, totoaba was listed as critically endangered by the IUCN in 1996 (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Findley, 2010).

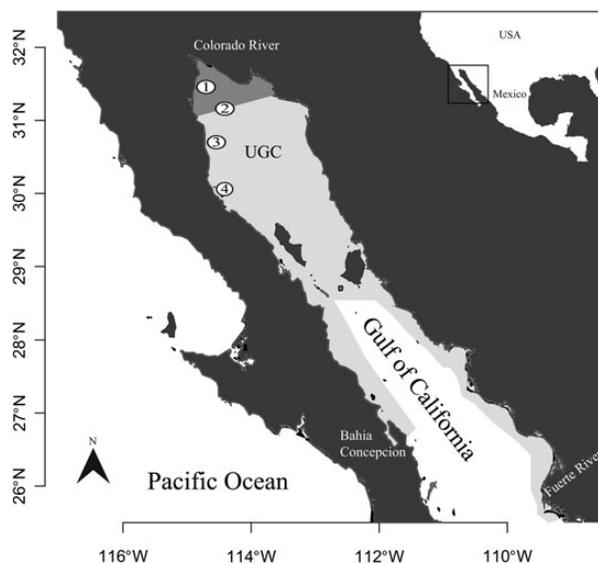
While overfishing and loss of habitat are the primary hypotheses for the fishery collapse (Flanagan and Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Cisneros-Mata *et al.*, 1997; Lercari and Chavez, 2007), the loss of genetic variation from demographic decline may be an ongoing threat that is contributing to the lack of totoaba recovery (García-de-León *et al.*, 2010; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011). Population decline could have resulted in the loss of genetic diversity that compromised the evolutionary potential of the species. This raises three important questions. (i) Did the decline in the population of totoaba affect genetic diversity? (ii) Can we distinguish between population decline caused by contemporary anthropogenic pressure and prehistoric population oscillations? (iii) Is the current effective population size sufficiently large to conserve long-term evolutionary potential?

Here, we evaluate whether the population collapse of totoaba was accompanied by a measurable loss of genetic diversity that may be an obstacle to stock recovery. Genetic data from microsatellite markers were used to estimate the amount of genetic diversity in the species and to reconstruct its demographic history. Current and past effective population sizes were estimated to determine whether current anthropogenic pressure has affected genetic diversity and evolutionary potential of the critically endangered totoaba.

## Material and methods

### Sampling and DNA extraction

Totoaba were caught at sea with hook and line and gillnet fishing surveys in April and November 2010 and February and March 2011 in the Upper Gulf of California in four sampling areas where totoaba are frequently observed (Figure 1): Core Zone, Roca Consag, south of San Felipe, and San Luis Gonzaga. Fish that were collected in San Luis Gonzaga in 2005 were also included. Approximately 1 cm<sup>2</sup> of pectoral fin tissue was excised and preserved in 96% ethanol. Genomic DNA was then extracted using the chloroform/isoamyl alcohol DNA extraction method, as modified by Correa-Ramírez *et al.* (2010).



**Figure 1.** Distribution of *Totoaba macdonaldi* in the Gulf of California (light gray). The Biosphere Reserve of the Upper Gulf of California and Colorado Delta River is indicated in dark gray. Numbers in circles represent sampling locations: (1) Core Zone ( $n = 39$ ), (2) Roca Consag ( $n = 66$ ), (3) South of San Felipe ( $n = 12$ ), (4) San Luis Gonzaga 2010 ( $n = 37$ ), 2005 ( $n = 26$ ).

### Microsatellite markers

DNA samples were analysed at 19 microsatellite loci. Of these, 13 were developed for totoaba (García-de-León *et al.*, 2010) and six (*Soc418*, *Soc423*, *Soc428*, *Soc430*, *Soc442* and *Soc443*) were developed for red drum (*Sciaenops ocellatus*) but were successfully amplified and variable in totoaba (O'Malley *et al.*, 2003). PCR was performed in 15  $\mu$ l total reaction volumes containing 1.5  $\mu$ l PCR buffer ( $\times 10$ ), 0.97  $\mu$ l MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0.6  $\mu$ l dNTPs (10 mM total), 1  $\mu$ l primers (5  $\mu$ M ea, pooled), and 0.2 U Taq DNA polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Thermal cycling conditions were 94°C for 4 min, followed by 34 cycles at 94°C for 45 s, at a locus-specific annealing temperature (Table S1) for 45 s, and at 74°C for 45 s, with a final extension at 74°C for 4 min. PCR products were electrophoresed on an ABI Prism 377 automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Allele sizes were determined with the GenTyper software program (Applied Biosystems). Two independent persons scored the genotypes, and discrepancies were resolved by a third independent person.

### Microsatellite data

Microsatellite data were checked for evidence of null alleles, using FreeNa (Chapuis and Estoup, 2007). Deviations from linkage and Hardy–Weinberg equilibria were tested with Markov chain Monte Carlo approximations of an exact test implemented in GenePop 4.0 (Rousset, 2008). The observed number of alleles ( $k$ ), effective number of alleles ( $n_e$ ), observed heterozygosity ( $H_o$ ), and expected heterozygosity ( $H_e$ ) were calculated using GenAEx 6.2 (Peakall and Smouse, 2006). Allelic richness ( $A_r$ ) was calculated in FSTAT 2.9.3.2 using a sample size of 159 individuals (Goudet, 2001).

### Test of demographic changes

Prior to evaluating demographic changes, population structure analysis was performed to detect any cryptic population structure in totoaba (highest  $F_{st}$  value between sampling locations  $\leq 0.00608$ ;  $p \geq 0.27$ ). To infer past demographic changes, single sample tests for recent reductions in  $N_e$  (i.e. bottlenecks) were performed. The heterozygosity excess test developed by Cornuet and Luikart (1996), implemented in the program Bottleneck 1.2.02 (Piry *et al.*, 1999), was used with variable proportions of single-step mutations (95, 90 and 85%). This method assumes that following a severe reduction in  $N_e$ , heterozygosity is higher than expected in a population at mutation-drift equilibrium with the same number of alleles. To determine the significance of heterozygosity excesses, Wilcoxon signed rank tests were used. The allele frequency distribution mode-shift method (Luikart *et al.*, 1998) was also used. This method examines the distribution of allele frequencies in the population with the idea that bottlenecked populations can potentially be discriminated from stable ones by the “shape” of the distribution. An L-shaped distribution is expected under mutation-drift equilibrium and a distribution with more intermediate frequency alleles (i.e. a mode-shift) is expected in bottlenecked ones, as a consequence of a higher rate of loss of rare alleles. This bottleneck signature is detectable over a relatively short period, about two to four  $N_e$  generations for heterozygosity excess and a few dozen generations for the mode-shift test (Cornuet and Luikart, 1996). The  $M$  ratio test (Garza and Williamson, 2001) was also performed. This method exploits the same differential loss of rare alleles following a reduction in  $N_e$  but examines the ratio of the number of alleles,  $k$ , to the range of allele size,  $r$ . The  $M$  ratio is expected to be smaller in recently reduced populations than in populations in

equilibrium (Garza and Williamson, 2001). Estimates of the  $M$  ratio for totoaba were calculated with Arlequin 3.0 (Excoffier *et al.*, 2005).

Long-term changes in  $N_e$  were assessed with the Bayesian method implemented in the program MsVar 1.3 (Beaumont, 1999). This method uses the genealogical history of microsatellite loci to estimate rates of population expansion or decline with Markov chain Monte Carlo simulations of mutation-coalescent history (Beaumont, 1999; Storz and Beaumont, 2002). This model estimates four parameters:  $N_0$  (current effective size),  $N_1$  (ancestral effective size),  $\mu$  (average of mutation rate for all loci), and  $T_a$  (time in years since change in population size). Three independent chains were run with different sets of *a priori* log values for the mean ( $M$ ) and standard deviation ( $V$ ) of  $N_0$  and  $N_1$  (Prior log values: Run 1:  $MVN_0 = 2,1$ ,  $MVN_1 = 4,2$ ; Run 2:  $MVN_0 = 4,2$ ,  $MVN_1 = 4,2$ ; Run 3:  $MVN_0 = 4,2$ ,  $MVN_1 = 2,1$ ) to test stability of estimates. Prior values of time since the population change ( $MVT_a = 5,2$ ) and mutation rate ( $MV\mu = -3,5,1$ ) were the same for all runs. The mutation rate was based on published estimates (Schlötterer, 2000; Storz and Beaumont, 2002; Selkoe and Toonen, 2006). The default values were used for the hyperpriors (Storz and Beaumont, 2002). Each chain was run for  $1.25 \times 10^9$  steps, with parameter estimates recorded each 50 000 steps. Convergence was assessed using Gelman–Rubin diagnostics (GRD) with the Coda package 0.14–4 (Plummer *et al.*, 2006) implemented in the R programming language (R Development Core Team, 2011). GRD values from 1 to 1.1 indicate reasonable convergence; values  $>1.1$  indicate poor convergence (Girod *et al.*, 2011). To support either population growth or decline, we used Bayes factors (BFs) (Beaumont, 1999; Storz and Beaumont, 2002). BFs for two models can be defined as the ratio where the numerator represents the posterior probability divided by its prior probability of model 1, and the denominator represents the posterior probability divided by its prior probability of model 2 (Girod *et al.*, 2011). BF for population decline can be estimated from simulated chains using posterior probability of population contraction:  $BF = (N_0/N_1 \leq 1)/(N_0/N_1 \geq 1)$ , where  $(N_0/N_1 \leq 1)$  is the posterior probability of population contraction and  $(N_0/N_1 \geq 1)$  is the posterior probability of population expansion (Storz and Beaumont, 2002). Posterior probabilities are the number of states in the chain in which the population has contracted or expanded (Girod *et al.*, 2011). The magnitude of BF in favour of population contraction indicates strong support when  $BF \geq 10$ , substantial support when  $BF = 3–10$ , no support when  $BF = 0.33–3$  and false detection when  $BF < 0.33$  (Girod *et al.*, 2011). No information about generation time for totoaba is available; thus, we used the age at first maturity of seven years (Cisneros-Mata *et al.*, 1995) as a proxy for generation time, as in other studies (e.g. Allen *et al.*, 2012).

### Effective population size

Several methods were used to estimate effective population size. As a first approximation, long-term effective population size was estimated following Nei (1987), based on microsatellite heterozygosity and assuming mutation-drift equilibrium:  $N_e = (1/[1 - H_e]^2 - 1)/8\mu$ , where  $H_e$  is expected heterozygosity and  $\mu$  is the mutation rate. Mean  $H_e$  was calculated without loci *Soc442*, *Soc430* and *Tmac74* because of the departures from the Hardy–Weinberg equilibrium at these loci. Two different values of  $\mu$  were used. The first ( $\mu = 0.00054$ ) was estimated from the data with DIYABC 0.7 (Cornuet *et al.*, 2008), and the second ( $\mu = 0.0005$ ) was estimated from the literature (Ellegren, 2000; Garza and Williamson, 2001; Selkoe and Toonen, 2006).

Another approach used to estimate  $N_e$  was with linkage disequilibrium (LD). The principle behind LD methods is that, as  $N_e$  decreases, genetic drift generates non-random associations among alleles at different loci or gametic disequilibrium (Hill, 1981). The level of LD should directly reflect  $N_e$  in small and moderate sized populations (Waples, 2006; Waples and Do, 2010).  $N_e$  was estimated using the LD bias-corrected method (Waples, 2006; Waples and Do, 2010), as implemented in NeEstimator 2.0 (Do et al., 2013). A *p*-critical value of 0.05 was chosen to reduce the potential bias for low frequency alleles (Waples and Do, 2010).

Approximate Bayesian computation (ABC) was also used to estimate  $N_e$  from the microsatellite data using the program OneSamp (<http://genomics.jun.alaska.edu/asp/Default.aspx> (last accessed 15 September 2013); Tallmon et al., 2008). ABC uses multiple summary statistics, and thus more information from the data than single summary statistic methods, which is expected to improve accuracy and precision of estimates. OneSamp created 50 000 populations with the same number of individuals and loci as contained in the genetic dataset and with  $N_e$  drawn uniformly from *a priori* values ranging from 100 to 5000. Values of  $N_e$  from simulated populations with summary statistic values close to the values from the focal population were accepted and used in a weighted local regression to estimate  $N_e$  of the focal population (Tallmon et al., 2008).

Finally, a different ABC estimation for  $N_e$  was performed with the program DIYABC (Cornuet et al., 2008) using all of the genetic diversity measures as summary statistics. This demographic model to estimate  $N_e$  for a population requires temporal sampling. To approximate temporal sampling in the observed data, three age groups were created, based on body length, and translated to age (<5 years, 970 mm; ~5 years, 970–1160 mm; >7 years, 1160 mm; unpublished data). The summary statistics from the original dataset were compared with summary statistics from 500 000 datasets sampled temporally from simulated populations with  $N_e$  drawn from a uniform distribution with *a priori* values ranging from 100–5000. Then 1% (5000) of the simulated datasets with the closest summary statistic values to those observed in the data were selected to estimate the posterior distribution of  $N_e$  through a local linear regression procedure (Cornuet et al., 2008).

## Results

Multilocus microsatellite genotypes were obtained for 180 totoaba. Null alleles were evident in *Soc442*. Seven of the 19 loci deviated from Hardy–Weinberg equilibrium ( $p < 0.05$ ), but only three loci (*Tmac74*, *Soc442*, *Soc430*) were not in Hardy–Weinberg equilibrium after Bonferroni correction ( $p \leq 0.0026$ ). These loci were omitted from further analysis. Four comparisons showed significant linkage disequilibrium ( $p < 0.05$ ), but none were significant after Bonferroni correction ( $p > 0.00014$ ).

The number of alleles per locus ( $k$ ) varied from 3 to 31 (mean = 11.6), the effective number of alleles ( $n_e$ ) varied from 1.3 to 19.2 (mean = 5), and allelic richness ( $Ar$ ) ranged from 3 to 31 (mean = 11.5). Mean  $H_o$  and  $H_e$  were  $0.62 \pm 0.22$  and  $0.67 \pm 0.20$ , respectively, and the mean  $F_{is}$  over all loci was  $0.08 \pm 0.19$  (Table 1).

No evidence of significant heterozygosity excess was found with any of the mutational model parameters. Similarly, mode-shift analysis revealed no noticeable departure from the L-shaped allele frequency distribution expected for populations at equilibrium. The  $M$  ratio test also failed to find evidence of a recent reduction in genetic effective size, and the mean value for all loci was  $M = 0.77$  (Table 1); thus, all summary statistic methods failed to find evidence of a significant recent reduction in  $N_e$  in totoaba.

**Table 1.** Genetic diversity values of *Totoaba macdonaldi*.

| Locus          | $N$ | $k$  | $n_e$ | $Ar$ | $H_o$ | $H_e$ | $F_{is}$ | $H-W$ | $M$  |
|----------------|-----|------|-------|------|-------|-------|----------|-------|------|
| <i>Tmac74</i>  | 160 | 31   | 19.2  | 31.0 | 0.70  | 0.95  | 0.26     | *     | –    |
| <i>Tmac56</i>  | 174 | 12   | 4.3   | 11.6 | 0.71  | 0.77  | 0.07     | NS    | 0.60 |
| <i>Tmac55</i>  | 177 | 14   | 5.9   | 13.8 | 0.80  | 0.83  | 0.04     | NS    | 0.70 |
| <i>Tmac51</i>  | 176 | 26   | 12.0  | 25.8 | 0.95  | 0.92  | –0.04    | NS    | 0.90 |
| <i>Tmac44</i>  | 159 | 9    | 4.0   | 9.0  | 0.70  | 0.75  | 0.06     | NS    | 0.75 |
| <i>Tmac43</i>  | 179 | 6    | 1.3   | 5.9  | 0.21  | 0.21  | 0.01     | NS    | 0.46 |
| <i>Tmac25</i>  | 172 | 17   | 9.4   | 17.0 | 0.89  | 0.89  | 0.00     | NS    | 0.71 |
| <i>Tmac10</i>  | 172 | 9    | 3.4   | 8.8  | 0.74  | 0.70  | –0.05    | NS    | 0.60 |
| <i>Tmac08</i>  | 167 | 8    | 3.2   | 8.0  | 0.68  | 0.69  | 0.01     | NS    | 1.00 |
| <i>Tmac07a</i> | 173 | 4    | 1.8   | 4.0  | 0.42  | 0.44  | 0.03     | NS    | 1.00 |
| <i>Tmac06</i>  | 166 | 18   | 6.5   | 17.9 | 0.75  | 0.85  | 0.11     | NS    | 0.72 |
| <i>Tmac05</i>  | 177 | 5    | 2.0   | 4.9  | 0.44  | 0.50  | 0.11     | NS    | 1.00 |
| <i>Tmac03</i>  | 179 | 5    | 1.8   | 4.9  | 0.48  | 0.45  | –0.07    | NS    | 0.83 |
| <i>Soc443</i>  | 172 | 4    | 1.8   | 4.0  | 0.44  | 0.45  | 0.02     | NS    | 0.57 |
| <i>Soc442</i>  | 178 | 3    | 2.0   | 3.0  | 0.10  | 0.50  | 0.80     | *     | –    |
| <i>Soc430</i>  | 173 | 10   | 2.1   | 9.7  | 0.46  | 0.53  | 0.13     | *     | –    |
| <i>Soc428</i>  | 179 | 8    | 4.3   | 8.0  | 0.80  | 0.77  | –0.05    | NS    | 0.80 |
| <i>Soc423</i>  | 178 | 11   | 2.9   | 10.7 | 0.66  | 0.66  | –0.01    | NS    | 0.83 |
| <i>Soc418</i>  | 169 | 21   | 7.0   | 20.9 | 0.81  | 0.86  | 0.05     | NS    | 0.88 |
| Mean           |     | 11.6 | 5.0   | 11.5 | 0.62  | 0.67  | 0.08     | NS    | 0.77 |

$N$  = Sample size,  $k$  = number of alleles,  $n_e$  = effective number of alleles,  $Ar$  = allelic richness, based on a sample size of 159 individuals,  $H_o$  = observed heterozygosity,  $H_e$  = expected heterozygosity,  $F_{is}$  = fixation index,  $H-W$  = Hardy–Weinberg disequilibrium,  $M$  =  $M$  ratio, NS = No significant departures from  $H-W$  equilibrium. \*Significant departures from  $H-W$  equilibrium.

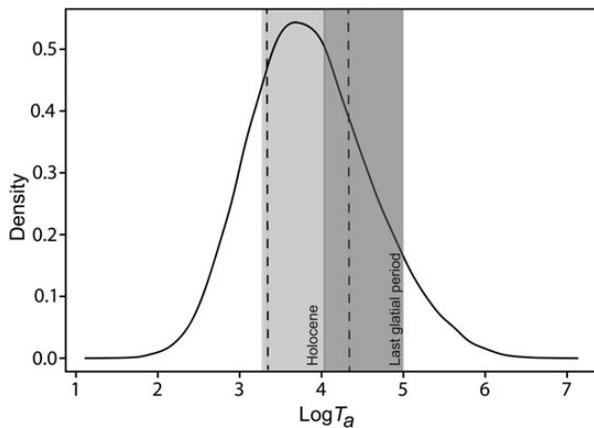
**Table 2.** Estimates of effective population size ( $N_e$ ) and confidence interval (CI) for totoaba using different methods.

| Software    | Estimator                  | $N_e$  | CI           |
|-------------|----------------------------|--------|--------------|
| MsVar       | <i>Genealogy</i> ( $N_0$ ) | 2 669  | 603–11 625   |
| MsVar       | <i>Genealogy</i> ( $N_1$ ) | 10 849 | 2 303–51 701 |
|             | Nei*                       | 1 894  |              |
|             | Nei**                      | 2 046  |              |
| NeEstimator | LD                         | 2 759  | 697–∞        |
| OneSamp     | Bayesian                   | 1 803  | 1 094–4 932  |
| DIYABC      | Bayesian                   | 2 680  | 1 540–3 900  |

Long-term demographic history estimates of current  $N_e$  ( $N_0$ ) and ancestral  $N_e$  ( $N_1$ ). Long-term Nei, linkage disequilibrium (LD) and Bayesian  $N_e$  estimates. \* ( $\mu = 0.00054$ ; DIYABC), \*\* ( $\mu = 0.0005$ ; Ellegren, 2000; Garza and Williamson, 2001; Selkoe and Toonen, 2006 from literature reports).

GRD indicated reasonable convergence among three independent MsVar runs for  $N_0$  (GRD = 1.08),  $N_1$  (GRD = 1.02), and  $\mu$  (GRD = 1.01), and poor convergence for  $T_a$  (GRD = 1.37). The analysis found a population decline in totoaba with ancestral effective size ( $N_1$ ) of 10 849 (90% HDP: 2303–51701) and current effective size ( $N_0$ ) of 2669 (90% HDP: 603–11 625), approximately a fourfold reduction (Table 2). This reduction was strongly supported (BF > 10), but the 90% HDP of  $N_0$  and  $N_1$  overlap, so the hypothesis of a constant population cannot be excluded (Table 2). The mean time elapsed since the population reduction started ( $T_a$ ) was estimated at 7413 years ago (90% HDP: 926–72 144; Figure 2).

Estimates of  $N_e$  obtained for totoaba were consistent among different methodologies and are summarized in Table 2. Nei's long-term  $N_e$  was estimated at 1894–2046 with two different mutation rates for microsatellite loci. The LD method implemented in NeEstimator yielded an estimate of 2759 (C.I.: 697–∞). ABC estimates were likewise similar, with OneSamp yielding an estimate of 1803 (C.I.: 1094–4932) and DIYABC of 2680 (95% HDP: 1540–3900) (Table 2).



**Figure 2.** Posterior distribution (solid line) of time since the population started to decline ( $T_a$ ), from MsVar. Time is in  $\log_{10}$  scale and represents years before present. Vertical dashed lines represent the 50% of data around the mean  $T_a$  estimate. Dark and light gray shades represent the last glacial period and Holocene, respectively.

## Discussion

Two different hypotheses to distinguish between contemporary and long-term effects of demographic changes on totoaba genetic diversity were evaluated with methods that provide inference on different time-scales.

First, contemporary overfishing and habitat loss were hypothesized as factors that could reduce genetic diversity of totoaba. To ascertain if this is the case, several summary statistic tests for recent reductions in  $N_e$  were performed. Both the heterozygosity excess test and allele frequencies distribution (mode shift) analysis provided results consistent with those expected in populations that have not experienced a bottleneck (Cornuet and Luikart, 1996; Luikart *et al.*, 1998; Luikart and Cornuet, 1998). The  $M$  ratio test also failed to find significant support for a recent reduction in effective size; the  $M$  ratio for totoaba was 0.77, which was higher than a commonly used threshold value ( $M = 0.68$ ) for populations that have suffered such reductions (Garza and Williamson, 2001). Genetic diversity was also compared with that of species in the same family of fish. The optimal way to compare genetic diversity between closely related species is to assay variation at the same set of molecular markers, ideally markers that were initially ascertained in other species, in samples that provide similar representation in the species being compared (Pastor *et al.*, 2004). When this is not feasible, a general comparison of patterns may still provide insight into genetic diversity. Totoaba exhibit genetic diversity that is similar to other, less depleted, sciaenid species that are not threatened (for comparisons see Table S2). Levels of genetic diversity in fish have been related to habitat and life history, with a general trend of increasing genetic diversity from freshwater to anadromous to marine fish (DeWoody and Avise, 2000). Genetic diversity of totoaba was similar to anadromous fish and slightly less than the mean for marine fish, but within the range of observed values, in spite of the severe population decline in the last century (Cisneros-Mata *et al.*, 1995).

Second, the hypothesis that long-term fluctuations in  $N_e$  are the primary determinants of genetic diversity was evaluated by Bayesian coalescent analysis and indicated that totoaba have experienced a fourfold historical reduction in effective population size. Bayesian factors also indicate strong support for a population decline

scenario. Even so, the broad range of  $T_a$  estimates (7413 years ago; 90%HPD: 926–72 144) makes it difficult to determine the exact time when the population started to decline (Figure 2). Consequently, these results should be treated with caution. This idea is supported by the overlap in the 90%HPD of  $N_0$  and  $N_1$ , as well as the Nei's long-term estimate of  $N_e$  that assumes mutation drift equilibrium, which was similar to contemporary  $N_e$  estimates. Other scenarios could be considered. For example, 50% of the data around mean  $T_a$  are in the range of 2200–22 000 years ago, which corresponds to the last glaciation maximum and the Holocene (Figure 2). In these epochs, several potential climatic events related to large scale oceanographic and ecological changes (Keigwin and Jones, 1990; Barron *et al.*, 2004; Yasuhara *et al.*, 2008) could have caused declines in the totoaba population. Although the proximate factors that caused this reduction in effective size cannot be inferred, it is likely to have been driven by these large-scale climatic events. Such patterns of long-term fluctuations in effective size have also been inferred in other marine species, including North Atlantic eels (Wirth and Bernatchez, 2003) and lane snapper (Karlsson *et al.*, 2009).

Mean  $N_e$  estimated for totoaba varied from 1894 to 2759, depending on the method employed. These values fall within the  $N_e$  range recommended for long-term conservation ( $N_e$ : 1000–5000), when considering mutation, drift and selection (Franklin and Frankham, 1998; Lynch and Lande, 1998). This suggests that totoaba still maintain sufficient genetic variation to cope with potential environmental changes that may affect its life history, which is contrary to some views (Flanagan and Hendrickson, 1976; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011).

Effective population size estimates for totoaba were also consistent with those of several commercial fishery stocks that have collapsed and some that have not (Turner *et al.*, 2002; Chapman *et al.*, 2002; Hauser *et al.*, 2002; Hutchinson *et al.*, 2003; Hoarau *et al.*, 2005; Poulsen *et al.*, 2006; Sallant and Gold, 2006; Riccioni *et al.*, 2010; Chapman *et al.*, 2011; Ruggeri *et al.*, 2012) (see Table S3 for summary comparisons). However, these comparisons should be viewed cautiously because of the different methods of estimation and the number and variability of the selected markers. However, our study was based on 16 microsatellite loci, while most  $N_e$  estimates in marine fish have been based on less than 11 microsatellite loci (Table S3), and the estimates for totoaba should therefore be relatively robust.

Taken together, these results suggest that the contemporary reduction in population size due to overfishing, habitat degradation, and poaching have not affected neutral genetic diversity, that the totoaba population is currently large enough that biological extinction caused by genetic effects is not likely to be an immediate threat, and that totoaba are likely to maintain the evolutionary potential necessary to cope with environmental changes.

## Methodological issues

Methods of detecting reductions in  $N_e$  assume a single panmictic population, but it is known that population structure can lead to false positive signals of reduction (Chikhi *et al.*, 2010). No evidence of population structure was detected in totoaba (highest  $F_{st}$  value between sampling locations  $\leq 0.00608$ ;  $p \geq 0.27$ ). Although the presence of loci that are out of Hardy–Weinberg equilibrium could indicate cryptic population structure, only three ( $< 20\%$ ) of the loci used here were out of Hardy–Weinberg equilibrium after Bonferroni correction. Methods for inferring recent reductions in  $N_e$  from contemporary genetic variation should be treated with

caution, as statistical power depends on sample size, number of loci employed, and the magnitude and timing of demographic changes (Williamson-Natesan, 2005; Girod *et al.*, 2011; Peery *et al.*, 2012). However, the number of microsatellite loci used here (16) and the population sample size (180 individuals) should provide sufficient statistical power to detect large reductions in effective population size (Peery *et al.*, 2012). That all methods provided concordant results lends additional support to the conclusion that there has not been a recent measurable loss of genetic variation in totoaba.

The Bayesian method in MsVar performs better than summary statistic methods for detecting changes in effective population size (Girod *et al.*, 2011). The MsVar method has higher precision and less biased estimates with severe ( $N_0/N_1 < 0.1$ ) and ancient population size reductions (Girod *et al.*, 2011), and the 90%HDP of parameter estimates decreases with severe population reductions. In this study, a less severe ( $N_0/N_1 = 0.25$ ) population size reduction was inferred, and the wide 90%HPDs in parameter estimates was thus expected (Girod *et al.*, 2011). The overlap in the 90%HDP of  $N_0$  and  $N_1$  estimates implies that the hypothesis of constant population cannot be ruled out. Assumptions about the mutation model could also bias the results (Storz and Beaumont, 2002), as the MsVar method assumes single-step mutations, but most microsatellite loci more closely follow a two-phase mutation model (Di Rienzo *et al.*, 1994). Inaccurate mutation rate estimates could produce biased estimates of some parameters ( $N_0, N_1, T_a$ ) (Storz and Beaumont, 2002) and hinder precise dating of past demographic changes. However, the mutation rate estimates used here are based on a large number of estimates from other species and have been used previously (Ellegren, 2000; Garza and Williamson, 2001; Storz and Beaumont, 2002; Selkoe and Toonen, 2006).

Estimates of  $N_e$  can also be biased due to assumption of the underlying assumptions. The methods employed here assume a single panmictic population and discrete generations. The assumption of discrete generations was clearly violated here, although overlapping generations are common in  $N_e$  estimation. In this situation, estimates from the LD method can be interpreted as an estimate of the number of breeders ( $N_b$ ) if only one cohort was sampled. If the number of cohorts sampled is approximately equal to generation length, estimates can be interpreted as  $N_e$  for the generation, but this relationship is still unclear for this method (Waples, 2006; Waples and Yokota, 2007; Waples and Do, 2010). The LD method has low precision at larger  $N_e$  ( $>1000$ ) because the drift signal is too weak (Waples and Do, 2010). Marine fish populations, in general, have large  $N_e$ , and LD estimates usually include infinity (Palstra and Ruzzante, 2008; Hare *et al.*, 2011), but the lower boundary is still informative (Waples and Do, 2010; Hare *et al.*, 2011).

Similarly, Bayesian methods to estimate  $N_e$  are biased by overlapping generations, but the effect of this bias has not been evaluated (Waples and Yokota, 2007). Bayesian methods yielded finite interval boundaries, despite low genetic drift. This difference can be explained because Bayesian methods use more information from the data to get better approximations for large  $N_e$  (Tallmon *et al.*, 2008; Therikildsen *et al.*, 2010). Potential biases associated with the use of reconstructed cohorts as a proxy to represent temporal sampling have not been evaluated in DIYABC, but both this and the Bayesian method in OneSamp use a similar approach (simulated data, summary statistics comparison, and posterior parameter estimation) (Cornuet *et al.*, 2008; Tallmon *et al.*, 2008). DIYABC uses coalescence theory in different complex scenarios; OneSamp does not and only uses the three general steps of the ABC approach. Despite the potential bias induced by cohort reconstruction and

methodological approach, they produced very similar results. Even so, one method does not validate the other, and results from the Bayesian methods should be viewed with caution, given the possible biases associated with their  $N_e$  estimates.

### Conservation implications

Understanding the evolutionary history of marine species can help to distinguish between contemporary and long-term population fluctuations and help to identify the level of conservation concern. Many commercially exploited marine fish have been considered as threatened, based mainly on demographic criteria (Musick *et al.*, 2000; Powles *et al.*, 2000; Dulvy *et al.*, 2003; Reynolds *et al.*, 2005) without consideration of genetic factors that underlie the species evolutionary potential and, therefore, its long-term conservation (Allendorf and Luikart, 2007).

Although some empirical work has found evidence of reductions in genetic diversity of marine fish caused by overexploitation (Hauser *et al.*, 2002; Hutchinson *et al.*, 2003), many other studies, including the present one, have failed to find reductions in genetic diversity in heavily exploited species and have concluded that  $N_e$  is large enough to alleviate long-term conservation concerns from loss of evolutionary potential (Ruzzante *et al.*, 2001; Hoarau *et al.*, 2005; Poulsen *et al.*, 2006; Therikildsen *et al.*, 2010; Chapman *et al.*, 2011; Cuveliers *et al.*, 2011; Pujolar *et al.*, 2011). In a meta-analysis of marine fish, Palstra and Ruzzante (2008) found that populations of conservation concern had significantly smaller  $N_e$  estimates (7–1160) than stable populations without conservation concern (19–8935). In addition, commercially exploited marine fish had significantly larger  $N_e$  estimates ( $N_e$ : in the range of 560–19 535) than conservation concern and without conservation concern categories of populations.

Under the prevailing hypothesis of estuarine dependence of totoaba for spawning, a reduction in genetic diversity was expected. After the Colorado River was dammed and diverted, the estuary was almost entirely desiccated. However, our results do not support this hypothesis as the cause for the population decline. Totoaba continue to spawn in the upper Gulf in non-estuarine conditions (Lavín *et al.*, 1998; Lavín and Sánchez, 1999; Valdez-Muñoz *et al.*, 2010; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011), and it is now known that the totoaba is able to tolerate a wide range of salinity conditions and can complete its life cycle entirely in marine conditions (Ortiz-Viveros, 1999; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011). This supports non-stringent dependence of totoaba on the estuary (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Bobadilla *et al.*, 2011; Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011).

This study showed that the totoaba population has not suffered a measurable contemporary reduction in neutral genetic diversity, but may have experienced a long-term, fourfold reduction in effective population size, which could be related to large-scale oceanographic and climatic events. Although totoaba has experienced very large declines in abundance in the last century, the remaining population is still large enough that genetic factors may not be a major problem for conservation. This represents a change in perception of the threats to the species after the fishery collapse in the 20th century (Flanagan and Hendrickson, 1976; Hendrickson, 1979; Cisneros-Mata *et al.*, 1995; CITES, 2010).

While evidence of substantial loss of neutral genetic diversity was not found, fishery and habitat loss may have caused loss or altered the frequency of selectively important variation, which could still have negative consequences. Changes in genetic diversity that are not easily measured by surveying neutral genetic markers may have significant effects on fitness and the genetic architecture of quantitative

traits (Russello *et al.*, 2012; Therkildsen *et al.*, 2013a). In the future, next-generation DNA sequencing technologies will be a powerful approach to examining the consequences of fisheries-induced, or other, selection on populations of marine fish with historically large effective sizes by providing genotypes at thousands of markers and assaying genomic levels of variation and signals of selection (Hemmer-Hansen *et al.*, 2013; Therkildsen *et al.*, 2013a, 2013b). These approaches will help to define new management units, based on the adaptive uniqueness of populations, and assess microevolutionary changes induced by harvest and other selective forces (Funk *et al.*, 2012; Therkildsen *et al.*, 2013a).

In spite of the apparent lack of genetic consequences from the population decline of totoaba over the last half century, the current demographic abundance of the species is still unknown. It is necessary to assess demographic parameters, such as biomass, mortality rates, and recruitment, to understand its population status. There is a request to reopen a totoaba sport fishery in the Gulf. The absence of a formal monitoring program or other approach to estimate abundance since the fishery was closed means that there is no contemporary information on population status. Coupled with a lack of information about other aspects of the species' biology, such as potential population structure and population dynamics, this makes any decision to reopen a fishery a risky venture (Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2011). We recommend a long-term monitoring program be implemented to provide insight into demographic and evolutionary processes of this species and a formal population assessment then be performed to inform any future changes in management.

### Supplementary data

The following supplementary data is available at *ICES Journal of Marine Science* online.

**Table S1.** Annealing temperatures ( $T_m$ ) for loci used in this study.

**Table S2.** Genetic diversity estimates for fish in the family Sciaenidae. Mean estimates for all loci in all populations. Number of loci, number of alleles ( $k$ ), observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ).

**Table S3.** Estimated effective population sizes for fish with microsatellite loci. Number of loci used (No. Loci), effective population size ( $N_e$ ), and confidence interval (CI). Modified from Hauser and Carvalho (2008).

### Acknowledgements

We thank Lucía Campos-Dávila, Norma Monroy-Olguín, Juan José Ramírez-Rosas, Martha Román-Reyes, José Saldaña, Marcela Vélez, Laura Rivera and the Fishermen Federation from San Felipe and Golfo de Santa Clara for field work. We also thank Rubén Valles-Jiménez and Miguel Correa of the Conservation Genetics Lab at CIBNOR, and Elizabeth Gilbert-Horvath, Alicia Abadía-Cardoso, Devon Pearse, Vanessa Apkenas and Martha Arciniega of the NOAA Molecular Ecology and Genetic Analysis Team for assistance with lab work. Ira Fogel of CIBNOR provided editorial services. G. Bernardi shared totoaba samples. We also thank R. Waples for providing the current version of NeEstimator and constructive comments, as well as two anonymous reviewers who substantially improved the manuscript.

### Funding

This work was funded by the Mexican Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO Grant

FB1508/HK050/10), the Mexican Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT Grant 165376), CIBNOR Projects PC0.19, EP2 and PC4.2, and the US National Oceanic and Atmospheric Administration (Southwest Fisheries Science Center). We thank the Mexican Government's Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales through the Dirección General de Vida Silvestre for issuing permits SGPA/DGVS/02913/10 and SGPA/DGVS/05508/11 to conduct fieldwork. F.V.Q. is a recipient of a CONACYT Doctoral Fellowship (No. 46305).

### References

- Allen, J. M., Miyamoto, M. M., Wu, C-H., E Carter, T., Ungvari-Martin, J., Magrini, K., and Chapman, C. A. 2012. Primate DNA suggests long-term stability of an African rainforest. *Ecology and Evolution*, 2: 2829–2842.
- Allendorf, F. W., and Luikart, G. 2007. *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell, Malden, MA.
- Arvizu, J., and Chávez, H. 1972. Sinopsis sobre la biología de la totoaba *Cynoscion macdonaldi* Gilbert, 1890. FAO Fisheries Synopsis No. 108: 26 pp.
- Barrera-Guevara, J. C. 1990. The conservation of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert), (Pisces: Sciaenidae), in the Gulf of California, México. *Journal of Fish Biology*, 37: 201–202.
- Barron, J. A., Bukry, D., and Bischoff, J. L. 2004. High resolution paleoceanography of the Guaymas Basin, Gulf of California, during the past 15000 years. *Marine Micropaleontology*, 50: 185–207.
- Beaumont, M. A. 1999. Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics*, 153: 2013–2029.
- Bobadilla, M., Alvarez-Borrego, S., Avila-Foucat, S., Lara-Valencia, F., and Espejel, I. 2011. Evolution of environmental policy instruments implemented for the protection of totoaba and the vaquita porpoise in the Upper Gulf of California. *Environmental Science & Policy*, 14: 998–1007.
- Chapman, D. D., Simpfendorfer, C. A., Wiley, T. R., Poulakis, G. R., Curtis, C., Tringali, M., Carlson, J. K., *et al.* 2011. Genetic diversity despite population collapse in a critically endangered marine fish: the smalltooth sawfish (*Pristis pectinata*). *Journal of Heredity*, 102: 643–652.
- Chapman, R. W., Ball, A. O., and Mash, L. R. 2002. Spatial homogeneity and temporal heterogeneity of red drum (*Sciaenops ocellatus*) microsatellites: effective population sizes and management implications. *Marine Biotechnology*, 4: 589–603.
- Chapuis, M. P., and Estoup, A. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24: 621–631.
- Charlesworth, B. 2009. Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nature Reviews Genetics*, 10: 195–205.
- Chikhi, L., Sousa, V. C., Luisi, P., Goossens, B., and Beaumont, M. A. 2010. The confounding effects of population structure, genetic diversity and the sampling scheme on the detection and quantification of population size changes. *Genetics*, 186: 983–995.
- Chute, R. 1928. The totuava fishery at the California Gulf. *California Fish and Game*, 14: 275–281.
- Cisneros-Mata, M. A., Botsford, L. W., and Quinn, J. F. 1997. Projecting viability of *Totoaba macdonaldi*, a population with unknown age-dependent variability. *Ecological Applications*, 7: 968–980.
- Cisneros-Mata, M. A., Montemayor-López, G., and Román-Rodríguez, M. J. 1995. Life history and conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conservation Biology*, 9: 806–814.
- CITES. 2010. Review of CITES Appendixes Based on Resolution Conf. 9.24 (Rev.) *Totoaba macdonaldi* (Mexican seabass). <http://www.cites.org/common/com/AC/17/E17i-06.pdf>
- CITES–UNEP. and 2011. Checklist of CITES species (CD-ROM). Ed. by G. CITES Secretariat, Switzerland, and UNEP-WCMC, Cambridge, United Kingdom.

- Cornuet, J. M., and Luikart, G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144: 2001–2014.
- Cornuet, J. M., Santos, F., Beaumont, M. A., Robert, C. P., Marin, J. M., Balding, D. J., Guillemaud, T., et al. 2008. Inferring population history with DIY ABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics*, 24: 2713–2719.
- Correa-Ramírez, M. M., Jiménez, M. L., and García-De-León, F. J. 2010. Testing species boundaries in *Pardosa sierra* (Araneae: Lycosidae) using female morphology and COI mtDNA. *Journal of Arachnology*, 38: 538–554.
- Costello, C., Ovando, D., Hilborn, R., Gaines, S. D., Deschenes, O., and Lester, S. E. 2012. Status and solutions for the world's unassessed fisheries. *Science*, 338: 517–520.
- Cuveliers, E. L., Volckaert, F. A. M., Rijnsdorp, A. D., Larmuseau, M. H. D., and Maes, G. E. 2011. Temporal genetic stability and high effective population size despite fisheries-induced life-history trait evolution in the North Sea sole. *Molecular Ecology*, 20: 3555–3568.
- DeWoody, J. A., and Avise, J. C. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 56: 461–473.
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M., and Freimer, N. B. 1994. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 3166–3170.
- Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J., and Ovenden, J. R. 2013. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14: 209–214.
- Dulvy, N. K., Sadovy, Y., and Reynolds, J. D. 2003. Extinction vulnerability in marine populations. *Fish and Fisheries*, 4: 25–64.
- Ellegren, H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics*, 16: 551–558.
- Enberg, K., Jørgensen, C., Dunlop, E. S., Heino, M., and Dieckmann, U. 2009. Implications of fisheries-induced evolution for stock rebuilding and recovery. *Evolutionary Applications*, 2: 394–414.
- Excoffier, L., Laval, G., and Schneider, S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1: 47–50.
- Findley, L. 2010. *Totoaba macdonaldi*. In: IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) (last accessed 14 May 2013).
- Flanagan, C. A., and Hendrickson, R. 1976. Observations on the commercial fishery and reproductive biology of the Totoaba *Cynoscion macdonaldi* in the northern Gulf of California. *Fishery Bulletin US*, 74: 531–544.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126: 131–140.
- Franklin, I. R., and Frankham, R. 1998. How large must populations be to retain evolutionary potential? *Animal Conservation*, 1: 69–70.
- Funk, W. C., McKay, J. K., Hohenlohe, P. A., and Allendorf, F. W. 2012. Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends in Ecology & Evolution*, 27: 489–496.
- García-de-León, F., Valles-Jimenez, R., Shaw, K., Ward, R., de-Anda-Montañez, J., and Martínez-Delgado, M. 2010. Characterization of fourteen microsatellite loci in the endemic and threatened totoaba (*Totoaba macdonaldi*) from the Gulf of California. *Conservation Genetics Resources*, 2: 219–221.
- Garza, J. C., and Williamson, E. G. 2001. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 10: 305–318.
- Girod, C., Vitalis, R., Leblois, R., and Fréville, H. 2011. Inferring population decline and expansion from microsatellite data: a simulation-based evaluation of the MsVar method. *Genetics*, 188: 165–179.
- Goudet, J. 2001. FSTAT. A program to estimate and test gene diversity and fixation indices, Versión 2.9.3. <http://www2.untill.ch/izea/software/fstat.html> (last accessed 14 November 2012).
- Hare, M. P., Nunney, L., Schwartz, M. K., Ruzzante, D. E., Burford, M., Waples, R. S., Ruegg, K., et al. 2011. Understanding and estimating effective population size for practical application in marine species management. *Conservation Biology*, 25: 438–449.
- Hauser, L., Adcock, G. J., Smith, P. J., Bernal-Ramírez, J. H., and Carvalho, G. R. 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 11 742–11 747.
- Hauser, L., and Carvalho, G. R. 2008. Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. *Fish and Fisheries*, 9: 333–362.
- Hemmer-Hansen, J., Nielsen, E. E., Therkildsen, N. O., Taylor, M. I., Ogden, R., Geffen, A. J., Bekkevold, D., et al. 2013. A genomic island linked to ecotype divergence in Atlantic cod. *Molecular Ecology*, 22: 2653–2667.
- Hendrickson, J. R. 1979. Totoaba: sacrifice in the Gulf of California—letter to my grandchildren. *Oceans*, 12: 14–28.
- Hilborn, R., and Walters, C. J. 1992. *Quantitative Fisheries Stock Assessment: Choice, Dynamics and Uncertainty*. Chapman and Hall, New York, NY.
- Hill, G. 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetical Research*, 38: 209–216.
- Hoarau, G., Boon, E., Jongma, D. N., Ferber, S., Palsson, J., Van der Veer, H. W., Rijnsdorp, A. D., et al. 2005. Low effective population size and evidence for inbreeding in an overexploited flatfish, plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 272: 497–503.
- Hutchings, J. A. 2000. Collapse and recovery of marine fishes. *Nature*, 406: 882–885.
- Hutchinson, W. F., van Oosterhout, C., Rogers, S. I., and Carvalho, G. R. 2003. Temporal analysis of archived samples indicates marked genetic changes in declining North Sea cod (*Gadus morhua*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 270: 2125–2132.
- Karlsson, S., Saillant, E., and Gold, J. 2009. Population structure and genetic variation of lane snapper (*Lutjanus synagris*) in the northern Gulf of Mexico. *Marine Biology*, 156: 1841–1855.
- Keigwin, L. D., and Jones, G. A. 1990. Deglacial climatic oscillations in the Gulf of California. *Paleoceanography*, 5: 1009–1023.
- Lankau, R., Jørgensen, P. S., Harris, D. J., and Sih, A. 2011. Incorporating evolutionary principles into environmental management and policy. *Evolutionary Applications*, 4: 315–325.
- Lavín, M. F., Godínez, V. M., and Alvarez, L. G. 1998. Inverse-estuarine features of the Upper Gulf of California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47: 769–795.
- Lavín, M. F., and Sánchez, S. 1999. On how the Colorado River affected the hydrography of the upper Gulf of California. *Continental Shelf Research*, 19: 1545–1560.
- Lercari, D., and Chavez, E. A. 2007. Possible causes related to historic stock depletion of the totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Perciformes: Sciaenidae), endemic to the Gulf of California. *Fisheries Research*, 86: 136–142.
- Luikart, G., Allendorf, F. W., Cornuet, J. M., and Sherwin, W. B. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity*, 89: 238–247.
- Luikart, G., and Cornuet, J. M. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology*, 12: 228–237.
- Lynch, M., and Lande, R. 1998. The critical effective size for a genetically secure population. *Animal Conservation*, 1: 70–72.
- Musick, J. A., Harbin, M. M., Berkeley, S. A., Burgess, G. H., Eklund, A. M., Findley, L., Gilmore, R. G., et al. 2000. Marine, estuarine,

- and diadromous fish stocks at risk of extinction in North America (Exclusive of Pacific Salmonids). *Fisheries*, 25: 6–30.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY.
- O'Malley, K. G., Abbey, C. A., Ross, K., and Gold, J. R. 2003. Microsatellite DNA markers for kinship analysis and genetic mapping in red drum, *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae, Teleostei). *Molecular Ecology Notes*, 3: 155–158.
- Ortiz-Viveros, D. 1999. Regulación iónica y osmótica de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* ante cambios de salinidad. Maestría. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, Mexico, 66 pp.
- Palstra, F. P., and Ruzzante, D. E. 2008. Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? *Molecular Ecology*, 17: 3428–3447.
- Pastor, T., Garza, J. C., Allen, P., Amos, W., and Aguilar, A. 2004. Low genetic variability in the highly endangered Mediterranean monk seal. *Journal of Heredity*, 95: 291–300.
- Peakall, R. O. D., and Smouse, P. E. 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288–295.
- Peery, M. Z., Kirby, R., Reid, B. N., Stoelting, R., Doucet-Béer, E., Robinson, S., Vásquez-Carrillo, C., et al. 2012. Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Molecular Ecology*, 21: 3403–3418.
- Peter, B. M., Wegmann, D., and Excoffier, L. 2010. Distinguishing between population bottleneck and population subdivision by a Bayesian model choice procedure. *Molecular Ecology*, 19: 4648–4660.
- Piry, S., Luikart, G., and Cornuet, J. M. 1999. Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in effective population size from allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90: 502–503.
- Plummer, M., Best, N., Cowles, K., and Vines, K. 2006. Coda: output analysis and diagnostics for MCMC. *R News*, 6: 7–11.
- Poulsen, N. A., Nielsen, E. E., Schierup, M. H., Loeschcke, V., and Grønkjær, P. 2006. Long-term stability and effective population size in North Sea and Baltic Sea cod (*Gadus morhua*). *Molecular Ecology*, 15: 321–331.
- Powles, H., Bradford, M. J., Bradford, R. G., Doubleday, W. G., Innes, S., and Levings, C. D. 2000. Assessing and protecting endangered marine species. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 669–676.
- Pujolar, J. M., Bevacqua, D., Capoccioni, F., Ciccotti, E., De Leo, G. A., and Zane, L. 2011. No apparent genetic bottleneck in the demographically declining European eel using molecular genetics and forward-time simulations. *Conservation Genetics*, 12: 813–825.
- R Development Core Team. 2011. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- Reiss, H., Hoarau, G., Dickey-Collas, M., and Wolff, W. J. 2009. Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish and Fisheries*, 10: 361–395.
- Reynolds, J. D., Dulvy, N. K., Goodwin, N. B., and Hutchings, J. A. 2005. Biology of extinction risk in marine fishes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 272: 2337–2344.
- Riccioni, G., Landi, M., Ferrara, G., Milano, I., Cariani, A., Zane, L., Sella, M., et al. 2010. Spatio-temporal population structuring and genetic diversity retention in depleted Atlantic Bluefin tuna of the Mediterranean Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 2102–2107.
- Rosales-Juárez, F., and Ramírez-González, E. 1987. Estado actual sobre el conocimiento de la totoaba (*Cynoscion macdonaldi*, Gilbert 1890). Secretaría de Pesca, México.
- Rousset, F. 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8: 103–106.
- Ruggeri, P., Splendiani, A., Bonanomi, S., Arneri, E., Cingolani, N., Santojanni, A., Belardinelli, A., et al. 2012. Temporal genetic variation as revealed by a microsatellite analysis of European sardine (*Sardina pilchardus*) archived samples. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 69: 1698–1709.
- Russello, M. A., Kirk, S. L., Frazer, K. K., and Askey, P. J. 2012. Detection of outlier loci and their utility for fisheries management. *Evolutionary Applications*, 5: 39–52.
- Ruzzante, D. E., Taggart, C. T., Doyle, R. W., and Cook, D. 2001. Stability in the historical pattern of genetic structure of Newfoundland cod (*Gadus morhua*) despite the catastrophic decline in population size from 1964 to 1994. *Conservation Genetics*, 2: 257–269.
- Saillant, E., and Gold, J. R. 2006. Population structure and variance effective size of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in the northern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin US*, 104: 136–148.
- Schlötterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite ADN. *Chromosoma*, 109: 365–371.
- Selkoe, K. A., and Toonen, R. J. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9: 615–629.
- Smith, P. J., Francis, R. I. C. C., and McVeagh, M. 1991. Loss of genetic diversity due to fishing pressure. *Fisheries Research*, 10: 309–316.
- Spielman, D., Brook, B. W., and Frankham, R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 15 261–15 264.
- Storz, J. F., and Beaumont, M. A. 2002. Testing for genetic evidence of population expansion and contraction: an empirical analysis of microsatellite DNA variation using a hierarchical Bayesian model. *Evolution*, 56: 154–166.
- Tallmon, D. A., Koyuk, A., Luikart, G., and Beaumont, M. A. 2008. ONE-SAMP: a program to estimate effective population size using approximate Bayesian computation. *Molecular Ecology Resources*, 8: 299–301.
- Therkildsen, N. O., Hemmer-Hansen, J., Als, T. D., Swain, D. P., Morgan, M. J., Trippel, E. A., Palumbi, S. R., et al. 2013a. Microevolution in time and space: SNP analysis of historical DNA reveals dynamic signatures of selection in Atlantic cod. *Molecular Ecology*, 22: 2424–2440.
- Therkildsen, N. O., Hemmer-Hansen, J., Hedeholm, R. B., Wisz, M. S., Pampoulie, C., Meldrup, D., Bonanomi, S., et al. 2013b. Spatiotemporal SNP analysis reveals pronounced biocomplexity at the northern range margin of Atlantic cod *Gadus morhua*. *Evolutionary Applications*, 6: 690–705.
- Therkildsen, N. O., Nielsen, E. E., Swain, D. P., and Pedersen, J. S. 2010. Large effective population size and temporal genetic stability in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 67: 1585–1595.
- Turner, T. F., Wares, J. P., and Gold, J. R. 2002. Genetic effective size is three orders of magnitude smaller than adult census size in an abundant, estuarine-dependent marine fish (*Sciaenops ocellatus*). *Genetics*, 162: 1329–1339.
- Valdez-Muñoz, C., Aragón-Noriega, E. A., Ortega-Rubio, A., Salinas-Zavala, C. A., Arreola-Lizárraga, J. A., Hernández-Vázquez, S., and Beltrán Morales, L. F. 2010. Distribución y abundancia de juveniles de Totoaba *Totoaba macdonaldi* y la salinidad del hábitat de crianza. *Interciencia*, 35: 136–139.
- Valenzuela-Quinonez, F., García de León, F., De Anda Montañez, J., and Balart, E. F. 2011. La totoaba del Golfo de California ¿Una especie en peligro de extinción? *Interciencia*, 36: 664–671.
- Waples, R. S. 2006. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. *Conservation Genetics*, 7: 167–184.
- Waples, R. S., and Do, C. 2010. Linkage disequilibrium estimates of contemporary Ne using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evolutionary Applications*, 3: 244–262.
- Waples, R. S., and Yokota, M. 2007. Temporal estimates of effective population size in species with overlapping generations. *Genetics*, 175: 219–233.

- Williamson-Natesan, E. 2005. Comparison of methods for detecting bottlenecks from microsatellite loci. *Conservation Genetics*, 6: 551–562.
- Wirth, T., and Bernatchez, L. 2003. Decline of North Atlantic eels: a fatal synergy? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 270: 681–688.
- Worm, B., Hilborn, R., Baum, J. K., Branch, T. A., Collie, J. S., Costello, C., Fogarty, M. J., *et al.* 2009. Rebuilding global fisheries. *Science*, 325: 578–585.
- Yasuhara, M., Cronin, T. M., deMenocal, P. B., Okahashi, H., and Linsley, B. K. 2008. Abrupt climate change and collapse of deep-sea ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 1556–1560.

*Handling editor: Lorenz Hauser*