



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**[ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DEL
JUREL (*Seriola rivoliana* Valenciennes 1833) EN EL
PACÍFICO MEDIANTE EL USO DE
MICROSATÉLITES]**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

P r e s e n t a

KAREN BERENICE GARCÍA LÓPEZ

La Paz, Baja California Sur, Marzo 2020

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 26 del Mes de marzo del 2020, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Estructura genética poblacional del jurel (*Seriola rivoliana* Valenciennes 1833) en el Pacífico mediante el uso de microsatélites"

Presentada por el alumno:

Karen Berenice García López

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Acuicultura**

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

LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Francisco Javier García de León
Director de Tesis



Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Co-Tutor



Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Co-Tutor



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos.

Conformación de comité

Comité tutorial

Dr. Francisco Javier García de León
Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S. C.
Director de Tesis

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S. C.
Co-Tutor de Tesis

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
CONACyT – Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S. C.
Co-Tutor de Tesis

Comité revisor de tesis

Dr. Francisco Javier García de León
Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez

Jurado de examen

Dr. Francisco Javier García de León
Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez

Suplente

Dr. Pedro Cruz Hernández

Resumen

El jurel pez fuerte (*Seriola rivoliana* Valenciennes 1833), es un pez marino de la familia Carangidae de hábitat pelágico que se distribuye en mares tropicales y templados del mundo. Es una especie apreciada en la cocina asiática y europea como en la pesca deportiva. Debido a su fácil adaptación al cautiverio y a su presencia en el Pacífico Mexicano, se han realizado esfuerzos para el desarrollo de su cultivo en las instalaciones del CIBNOR en colaboración con la empresa Kampachi Farms de México. Poco se conoce sobre su variabilidad genética y dado que el cultivo de *S. rivoliana* está emergiendo no sólo en México, sino en el mundo, es importante proporcionar información que permita entender cómo se encuentran sus poblaciones naturales a lo largo de su rango de distribución y describir la variabilidad genética de las mismas, permitiendo conservar su potencial evolutivo a la vez que se ofrece un beneficio para la práctica acuícola al proporcionar información que ayudan en un manejo sustentable durante la elección de reproductores. El objetivo del trabajo fue determinar la estructura genética poblacional de la especie empleando 20 loci microsátélites en 146 individuos colectados en 13 localidades comprendidos por Hawái, las costas del Pacífico Mexicano y Panamá, así como evaluar la diversidad genética de las poblaciones resultantes. La estructura genética fue determinada por análisis estadísticos de agrupación bayesiana, análisis de componentes principales y comparaciones pareadas de F_{ST} , coincidiendo en la existencia de cinco poblaciones en el océano Pacífico, tres de ellas homogéneas (Hawái, población de cultivo F1 y Península de Azuero) y dos con una zona de mezcla en la Península y Golfo de California. Los valores de diversidad genética fueron menores a los reportado en otras especies pelágicas de peces, pero fueron consistentes con los reportados para el género. A pesar de su alta capacidad de dispersión, la especie mostró una marcada diferenciación genética, que puede estar respaldada por las condiciones heterogéneas presentadas en el océano Pacífico.

Palabras clave: microsátélites, estructura poblacional, *Seriola rivoliana*.



Vo.Bo.

Dr. Francisco Javier García de León

Director de tesis

Summary

The almaco jacks (*Seriola rivoliana* Valenciennes 1833), is a marine fish of the Carangidae family of pelagic habitat that is distributed in tropical and temperate seas of the world. It is a species appreciated in Asian and European restaurants as in sport fishing. Due to its easy adaptation to care and its presence in the Mexican Pacific, efforts have been made to develop its crop at CIBNOR facilities in collaboration with the Kampachi Farms company in Mexico. Little is known about its genetic variability and given that *S. rivoliana* cultivation is emerging not only in Mexico, but in the world. So, it is important to provide information that allows understanding the populations genetic variability throughout their distribution range, the conservation of their evolutionary potential and to offer a benefit for aquaculture practice by providing information that helps in sustainable management during the selection of breeders. The objective of the work was to determine the population genetic structure of the species using 20 microsatellite loci in 146 individuals collected in 13 localities comprised of Hawaii, the Pacific coast of Mexico and Panama, as well as their genetic diversity comprised in number of alleles, number of effective alleles, observed and expected heterozygosity of the resulting populations. The genetic structure was determined by statistical analysis of Bayesian grouping, principal component analysis and paired comparisons of F_{ST} , coinciding in the existence of five populations in the Pacific Ocean, three of them homogeneous (Hawaii, F1 and Azuero Peninsula) and two with a mixing zone in the Peninsula and Gulf of California. Genetic diversity values were lower than those reported in other pelagic fish species but were consistent with reports for the genus. Despite its high dispersal capacity, the species showed marked genetic differentiation, which may be supported by the heterogeneous conditions included in the Pacific Ocean.

Keywords: microsatellites, population structure, *Seriola rivoliana*.



Vo.Bo.

Dr. Francisco Javier García de León

Director de tesis

Dedicatoria

A mi maestro, amigo y hermano Adán Gómez-Glez por su eterna esencia.

A mis padres, por el amor, la fuerza y el apoyo.

A Jhonathan Pazmiño, mi amor, mi cómplice y todo, por las sonrisas, las noches, el primer café y los que nos quedan por compartir...

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C. (CIBNOR) por aceptarme en su programa de Posgrado y ser mi casa de estudios durante más de dos años.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyt) por la beca otorgada No. 635346.

A mi comité tutorial: Dr. Francisco Javier García de León, Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola y Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez por su compromiso, comprensión, aportes y apoyo en la realización de este proyecto, en especial a mi director de tesis porque además de compartirme sus conocimientos de genética, también lo hizo de la vida en el momento más oportuno.

Al Proyecto “Caracterización genética del jurel pez fuerte (*Seriola rivoliana* Valenciennes 1833) en las Costas de la Península de Baja California” soportado por el Programa de Fomento a la Productividad Pesquera y Acuícola, Instituto Nacional de Pesca – Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (INAPESCA-SAGARPA) No. 2505161165.

Al Proyecto SEP-CONACYT de Ciencia Básica 257524: Paisaje genómico en el medio marino: patrones de diversidad adaptativa.

A los pescadores e investigadores involucradas en la obtención de las muestras.

Al personal de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos la Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro, Lic. Leticia González Rubio Rivera, Lic. Osvelia Ibarra Morales; por su atención y apoyos económicos otorgados (participación en eventos académicos y gastos de manutención); a Tania Verónica Núñez Valdez y Adriana Teresa Franzoni García por su amable apoyo y disposición para el papeleo y trámites. Al Lic. Horacio Sandoval Gómez por ser más que el responsable del Laboratorio de Cómputo y apoyarme en la logística de mis reuniones, así como en el uso del equipo y software para mis análisis.

A los trabajadores del CIBNOR: José Luís Jara Ochoa del Departamento de Control Presupuestal por su colaboración para la obtención del préstamo necesario para realizar análisis. A Cruz Romero Acevedo del área de Envíos y Paquetería por su disposición y orientación para el envío de las muestras. A Jorge Cobos Anaya y Efraín Castillejos Pastrana de la Coordinación de Atención Técnica Interna Especializada por su contribución en realizar las instalaciones necesarias para la isla y conexiones de los equipos para la actividad de laboratorio. A Sergio Emanuel Valle Ceseña, Pilar Lucero Geraldo y Heraclio de la Peña por su amabilidad y atención en el servicio de transporte.

Al gran equipo del Laboratorio de Genética para la Conservación (Gencon): Carolina Galván, Adonají Orozco, Verónica Mendoza, Georgina Morales, Chevy Olivas y Josué Martínez; sus enseñanzas y conocimientos fueron importantes en este proyecto, gracias por la oportunidad y el placer de compartir.

A la Dra. Celia Vazquez Boucard por el espacio en su Laboratorio de Proteómica y Toxicología Genética ante la remodelación del nuestro.

A los integrantes del Laboratorio de Genómica y Bioinformática: M.C. Gabriela Mendoza Carrión quien me apoyó con el espacio y equipo para las extracciones de ADN y reacciones de PCR; así como al Dr. Eduardo Quiroz Guzmán y a su equipo Diana Barajas, Omar Lomelí, Bernardo Veyrand, Alexis Sandez y Esther Ponce; por acogerme y ser mi segundo laboratorio.

A la Técnico Patricia Hinojosa Baltazar del Laboratorio de Fisiología Comparada y Genómica Funcional por permitirme hacer uso del fotodocumentador.

A mis compañeros y amigos de generación (2017-2019) y al resto de las personas (además de los ya mencionados) que tuve la oportunidad de conocer durante mi estancia en Baja California Sur y se convirtieron en mi familia Paceña, principalmente a Alfredo López, Víctor Fuentes, Víctor García y Ángel Arroyo.

A mi familia y amigos de Chiapas y de otros lugares que aún en la distancia estuvieron brindándome su apoyo y cariño: Ale Hernández, Carlos Acevedo, Christian Rico, Yesica Acero, Alhelí Basulto, Guillermo Castro, Mariela Hernández, Eidyling Morales, Olivia Corzo, Esmeralda Martínez, Karla Ramírez y Davidcito...

Y sobre todo a las personas más importantes de toda esta aventura:

Mis mis padres, José García y Reina López, y hermano Juan Carlos García, por haber soportado mi ausencia y llenarme de aliento para cumplir mi objetivo. Los amo.

Al amor de mi momento, Jhonathan Pazmiño, porque además de su apoyo sentimental y académico, llegó para cambiar mi vida por completo.

A mi güeris que amo con toda el alma, Georgina Morales, con quien decidimos iniciar esta meta, por ser más que una hermana; una fortuna haber caminado contigo este trayecto y nuevamente haber llegado juntas.

A Adán Gómez y Wilfredo Matamoros, por ser los responsables de estudiar un posgrado, sin su motivación y sus enseñanzas no hubiera tenido la oportunidad de vivir tan gran experiencia...

¡Gracias totales!

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vii
Lista de figuras	ix
Lista de tablas	xi
Glosario	xiii
1.INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Aspectos generales de la especie	4
2.2 Diversidad genética	7
2.3 Estructura genética poblacional	8
2.4 Estudios genéticos en el género <i>Seriola</i>	10
3. JUSTIFICACIÓN	12
4. HIPÓTESIS	13
5. OBJETIVOS	14
5.1 Objetivo general.....	14
5.2 Objetivos particulares	14
6. MATERIAL Y MÉTODOS	15
6.1 Área de estudio y obtención de muestras biológicas	15
6.2 Extracción de ADN e identificación de individuos	17
6.3 Diseño y estandarización de loci microsatélites.....	18
6.4 Genotipificación de individuos	22
6.5 Análisis de datos.....	23
6.5.1 Calibración de loci microsatélites	23

6.5.3 Análisis de diversidad genética intrapoblacional	28
7. RESULTADOS	29
7.1 Extracción de ADN e identificación de individuos	29
7.1 Calibración de loci microsatélites	29
7.1.1 Alelos nulos	29
7.1.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg:.....	30
7.1.3 Desequilibrio de ligamiento.....	31
7.1.4 Loci bajo selección	32
7.2 Estructura genética	35
7.2.1 Análisis de agrupación bayesiana	35
7.2.2 Análisis Discriminante de Componentes Principales (ADCP).....	39
7.2.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)	41
7.2.4 Índice de fijación	42
7.3 Análisis de diversidad genética.....	44
8. DISCUSIÓN	46
8.1 Calidad y efectividad de los loci	46
8.2 Estructura genética	48
8.3 Diversidad genética	51
9. CONCLUSIONES	53
10. LITERATURA CITADA	54
11. ANEXOS	68

Lista de figuras

- Figura 1.** Mapa de distribución para *Seriola rivoliana* generado por computadora, modelado del año 2050 basado en el escenario de emisiones IPCC RCP8.5. Los colores de la distribución indican probabilidad de ocurrencia. Disponible en: www.aquamaps.org, consultado 17 de enero de 2020. 4
- Figura 2.** Ejemplar de jurel (*Seriola rivoliana*). Los Cabos, Baja California Sur. Fuente: Carlos Javier Navarro Serment/CONABIO. 5
- Figura 3.** Sitios de recolecta empleados para el análisis genético de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico. Los números indican las localidades: 1= Hawái, 2=Mazatlán, 3=San Evaristo, 4=Isla Cerralvo, 5=Cultivo F1, 6= Ciudad Constitución, 7= San José del Cabo, 8=Zihuatanejo, 9=Acapulco, 10= Punta Maldonado, 11=Oaxaca, 12= Ciudad de Panamá y 13= Península de Azuero. 15
- Figura 4.** Loci candidatos bajo selección para *Seriola rivoliana* basados en los valores de F_{ST} . En rojo se muestra el número de locus candidatos a una selección positiva. 34
- Figura 5.** Número más probable de grupos genéticos de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico con 20 loci microsátélites basado en el ΔK (Evanno *et al.*, 2005). Corridas: a) Primera, $\Delta K=2$, b) segunda, $\Delta K=2$ y c) tercera, $\Delta K=3$ 36
- Figura 6.** Gráfico de barras del coeficiente de ancestría de los individuos de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico a partir del análisis bayesiano en STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) para: a) valores de $K=2$ en primera corrida, b) valores de $K=2$ para la segunda corrida y c) $K=3$ para la tercera corrida. Cada barra vertical representa a un individuo con la probabilidad de pertenencia a un grupo genético. 37
- Figura 7.** A la izquierda: gráfica de barras del coeficiente de ancestría de los 146 individuos de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico a partir del análisis bayesiano en STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). Cada barra vertical representa a un individuo con la probabilidad de pertenencia a un grupo genético. Se muestra los cinco grupos genéticos obtenidos en los análisis: naranja= Hawái (HAW), marrón= Cultivo (F1), verde= Costa de la Península y Golfo de California (CPG), azul= Pacífico Oriental (PAO) y púrpura= Península de Azuero (PA). El mapa de la derecha muestra la distribución de los coeficientes de ancestría a lo largo de los sitios de colecta. 38
- Figura 8.** Gráfico obtenido a partir de la función find.cluster del paquete adegenet v.2.1.1 para R v.3.6.0 (R Core Team, 2020) que presenta los valores del Criterio de Inferencia Bayesiana (BIC). Se muestra una disminución en $K= 4$, indicando la presencia de cuatro grupos. 39

Figura 9. Análisis Discriminante de Componentes Principales con 20 PCs retenidos. Gráficos obtenidos mediante 20 loci microsatélites en *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico. a) Gráfico de dispersión de las 13 localidades con dos funciones discriminantes retenidas. b) Gráfico de la densidad de los individuos a partir de los grupos obtenidos con la primera función discriminante retenida. Los colores representan los grupos genéticos: naranja= Hawái (HAW), verde= Costa de la Península y Golfo de California (CPG), azul= Pacífico Oriental (PAO) y púrpura= Península de Azuero (PA)..... 40

Lista de tablas

Tabla I. Individuos recolectados para los análisis genéticos. Número de individuos por localidad (N). Número de individuos amplificados para el gen COI (NCOI). Número de organismos identificados como <i>Seriola rivoliana</i> (Id). Número de individuos utilizados para el genotipado (NG).....	16
Tabla II. Loci microsatélites empleados en sistema <i>poolplex</i> . Color de fluoróforo: PET (rojo), NED (negro), VIC (verde) y 6FAM (azul).	21
Tabla III. Frecuencia de alelos nulos para los 20 loci microsatélites empleados en <i>Seriola rivoliana</i> , determinados mediante el programa FreeNA. Valores bajos (<0.05), medios (0.05-0.20) representados en negritas. Para las frecuencias de alelos nulos por localidad ver Anexo A.	30
Tabla IV. Valores significativos (*) del desequilibrio de Hardy-Weinberg de loci microsatélites por localidad después de la corrección de Bonferroni ($p \leq 0.0025$). Locus monomórfico (M). Para los valores de H_o , H_e y p -value ver Anexo A.....	31
Tabla V. Pares de loci ligados para <i>Seriola rivoliana</i> con valor de p significativo después del ajuste de Bonferroni ($p \leq 0.00026$).....	32
Tabla VI. Valores obtenidos para la detección de loci candidatos a selección en <i>Seriola rivoliana</i> . Se muestran en rojo los loci bajo selección positiva ($p < 0.01$). Heterocigosidad observada entre poblaciones (H_oEP), valor de F_{ST} observado (F_{STO}), p -value de F_{ST} (p -value).....	33
Tabla VII. Porcentaje de variación a diferentes niveles jerárquicos explicados por el AMOVA de tres escenarios puestos a prueba.	41
Tabla VIII. Valores de F_{ST} pareados entre localidades para <i>Seriola rivoliana</i> con 20 loci microsatélites en el océano Pacífico. Debajo de la diagonal se muestran los valores de F_{ST} , mientras que sobre la diagonal se presentan los valores de p . Los valores significativos se muestran en negritas después de la corrección de Bonferroni ($p < 0.0006$). Los colores representan los grupos genéticos generados por STRUCTURE: naranja =Hawái (HAW), marrón= Cultivo (F1), verde= Costa de la Península y Golfo de California (CPG), azul= Pacífico Oriental (PAO) y púrpura= Península de Azuero (PA).....	43
Tabla IX. Valores promedio de los estimadores de diversidad genética en las poblaciones de <i>Seriola rivoliana</i> del océano Pacífico. Se presenta el tamaño de muestra (N), número de alelos (N_a), número de alelos efectivos (N_e), heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e). El análisis se realizó en el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). Hawái (HAW), Cultivo (F1), Costa de la Península y Golfo de California (CPG), Pacífico Oriental (PAO) y Península de Azuero (PA).....	44

Tabla X. Valores de p de heterocigosidad observada (H_o) pareados entre poblaciones para <i>Seriola rivoliana</i> con 20 loci microsatélites en el océano Pacífico. Se presentan los valores después de la corrección de Bonferroni ($p<0.05$).	45
Tabla XI. Valores de p de heterocigosidad esperada (H_e) pareados entre poblaciones para <i>S. rivoliana</i> con 20 loci microsatélites en el océano Pacífico. Los valores significativos se muestran en sombreadas en gris después de la corrección de Bonferroni ($p<0.05$).	45

Glosario

COI: Citocromo Oxidasa subunidad I. Gen mitocondrial que codifica para una proteína que es muy conservadora, con funciones básicas en la respiración celular y que es empleado como código de barras para identificación de organismos.

Contigs: serie de secuencias de ADN creadas mediante ensamble de fragmentos secuenciados, las cuales se encuentran superpuestas, utilizadas para hacer un mapa físico que reconstruye la secuencia original de ADN, ya sea de un cromosoma o de una región del cromosoma.

Forward: *primer* que se encuentra en la dirección 5' durante la amplificación del ADN.

Primer: También conocido como iniciador o cebador. Corresponde a una secuencia corta de ADN y es empleado en una reacción de PCR para especificar la región de ADN que será amplificada.

Reverse: *primer* que se ubica en la dirección 3' durante la amplificación de ADN.

1.INTRODUCCIÓN

El jurel (*Seriola rivoliana* Valenciennes 1833), también conocido como medregal limón o pez fuerte, es una especie de pez marino perteneciente a la familia Carangidae (Eschmeyer *et al.*, 2017). Presenta un hábitat pelágico con una amplia distribución, encontrándose en mares tropicales y templados de todo el mundo (Avilés y Castelló, 2004).

La captura de las especies pertenecientes al género *Seriola* se realiza principalmente con fines de pesca comercial, ya sea por grandes o pequeñas embarcaciones y con fines de cultivo al ser apreciados en la cocina asiática y europea (Avilés y Castelló, 2004). Además, son altamente valorados en la pesca deportiva (Avilés y Castelló, 2004; Smith-Vaniz, 1995). Sin embargo, durante la pesca comercial es difícil distinguir las especies que habitan el Pacífico Mexicano (*S. dorsalis*, *S. rivoliana* y *S. lalandi*, incluso otros géneros dentro de la familia), registrando a todos los individuos como jureles (SAGARPA, 2006).

Las experiencias de cultivo han mostrado que estos organismos son de fácil adaptación al cautiverio, tienen un rápido crecimiento y altos precios en el mercado (Avilés y Castelló, 2004), dadas estas características, en México se han realizado esfuerzos para el desarrollo de la acuicultura del jurel de castilla (*S. lalandi*) en el CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada) en Baja California y del jurel pez fuerte (*S. rivoliana*) por parte de la empresa Rancheros del Mar S. A de C. V y en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en colaboración con la empresa Kampachi Farms de México en Baja California Sur.

A pesar del potencial de cultivo de *S. rivoliana*, poca es la información referente a su biología y aún más de su aspecto genético, por lo que resulta relevante realizar investigaciones que conduzcan a un desarrollo sustentable en los sistemas de cultivo, así como la permanencia de las poblaciones naturales. Las investigaciones

de tipo genético tienen aplicaciones por ejemplo, en el establecimiento de líneas de base genéticas que promueven el mejoramiento en características de interés para el cultivo como la resistencia a parásitos, tasas de conversión alimenticia o crecimiento elevado. Otra de las aplicaciones escasamente usada en los sistemas de cultivo, son los estudios sobre diversidad genética de las poblaciones naturales, éstas investigaciones son de importancia ya que pueden reducir los problemas de endogamia al momento de elegir a los reproductores para el cultivo o bien, al efectuarse una liberación de individuos obtenidos en cautiverio al medio natural (FAO, 2009, 2015).

Los estudios genético poblacionales también son útiles para la pesca comercial, ya que permiten la identificación de poblaciones para la definición de stocks pesqueros. Mediante el conocimiento de la variación genética del recurso a través del tiempo y del espacio, pueden establecerse estrategias de regulación en la captura de los organismos para proteger a aquellas poblaciones vulnerables y contribuir en la recuperación y permanencia del recurso a un largo plazo (Carvalho y Hauser, 1995; Çiftci y Okumus, 2002). Bajo una perspectiva científica, el conocer cómo están estructuradas las poblaciones naturales y cuáles son los factores que conducen a esa estructuración, son de gran relevancia para entender los aspectos iniciales de la especiación; pero también para determinar áreas geográficas prioritarias para la conservación. Preservar las características genéticas intrínsecas permiten a los organismos enfrentarse a las variaciones espaciales o temporales; si existe una reducción de la diversidad genética en una población, su potencial evolutivo disminuye y con ello su capacidad de responder ante los retos ambientales, por lo que conservar la diversidad genética garantiza la supervivencia a largo plazo (Caballero, 2014).

Dentro del género *Seriola* se han realizado investigaciones sobre la diversidad genética, principalmente en *S. lalandi* tanto en poblaciones naturales (Fernández *et al.*, 2015; Miller *et al.*, 2011; Premachandra *et al.*, 2017; Purcell *et al.*, 2015) como en cautiverio (Martínez-Matus, 2016), así como también se han desarrollado

microsatélites especie-específicos para *S.dumerili* (Babbucci *et al.*, 2006) y *S. quinqueradiata* (Ohara *et al.*, 2013). Sin embargo, en *S. rivoliana*, existe un sólo estudio, el cual reveló ausencia de diferenciación entre individuos del Mar Mediterráneo y del océano Atlántico al evaluar la diversidad genética mediante ocho microsatélites diseñados para de *S.dumerili* y tres regiones mitocondriales (Cyt b, COI y D-loop) (Šegvić-Bubić *et al.*, 2016). Dado que no hay estudios previos para identificar unidades poblacionales naturales a gran escala de su distribución y que no se cuentan con marcadores moleculares para *S. rivoliana*, en este estudio se planteo como objetivos generar loci microsatélites especie-específico y analizar la estructura genética en el océano Pacífico, incluyendo muestras del Pacífico central y oriental.

2. ANTECEDENTES

2.1 Aspectos generales de la especie

El jurel *Seriola rivoliana* Valenciennes 1833, es una especie marina que habita principalmente en mares tropicales de todo el mundo que, ocasionalmente, ingresa a aguas templadas (Eschmeyer *et al.*, 2017). En el Indo-Pacífico se encuentra desde Kenia hacia el sur de Sudáfrica, al este de las Islas Marianas y Wake en Micronesia, al norte de las Islas Ryukyu, al sur de Nueva Caledonia y en las Islas Kermadec (Smith-Vaniz, 1984). En el Pacífico Oriental se distribuye desde el sur de California hasta Perú, incluidas las Islas Galápagos (Smith-Vaniz, 1995). En el Océano Atlántico Occidental desde Cape Cod en los Estados Unidos de América hasta el norte de Argentina (Cervigón, 1993). Aunque su distribución en el Atlántico Oriental no ha sido plenamente definida, existen registros de organismos en el Mediterráneo (Castriota *et al.*, 2002) (Fig.1). Está presente en profundidades que van desde los 3 hasta los 250 m, encontrándose preferentemente entre los 30-35 m (Smith-Vaniz *et al.*, 2015).

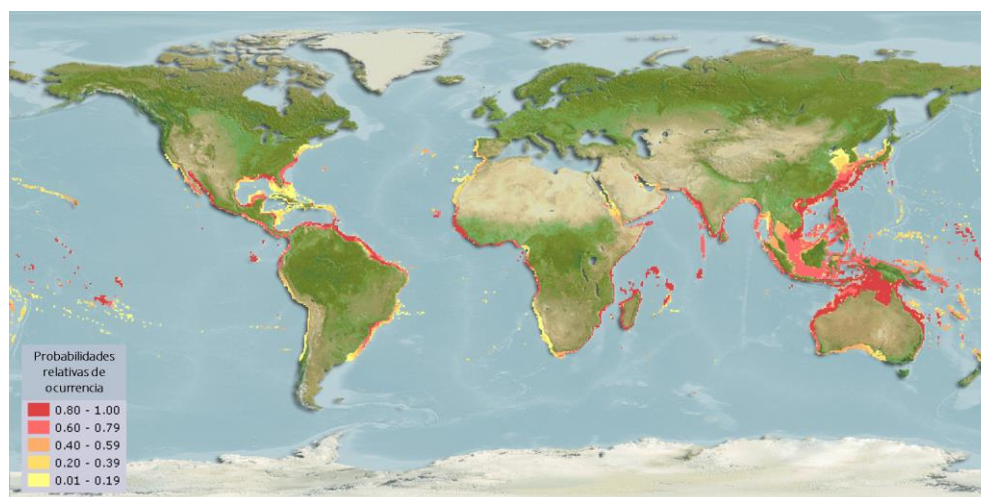


Figura 1. Mapa de distribución para *Seriola rivoliana* generado por computadora, modelado del año 2050 basado en el escenario de emisiones IPCC RCP8.5. Los colores de la distribución indican probabilidad de ocurrencia. Disponible en: www.aquamaps.org, consultado 17 de enero de 2020.

En el Pacífico Oriental Tropical se distingue de otras especies de *Seriola* por un tener un cuerpo más profundo, una banda oscura oblicua que va desde el hocico hasta el frente de la aleta dorsal y los lóbulos de la aleta dorsal y anal son relativamente altos (Allen y Robertson, 1994) (Fig. 2).



Figura 2. Ejemplar de jurel (*Seriola rivoliana*). Los Cabos, Baja California Sur. Fuente: Carlos Javier Navarro Serment/CONABIO.

Los adultos son pelágicos, alcanzan tallas de al menos 100 cm, aunque lo común son 60 cm; forman pequeños grupos y son en gran parte nómadas (Allen y Robertson, 1994; Smith-Vaniz, 1995) y se caracteriza por presentar sexos separados. Respecto a sus hábitos reproductivos, lo documentado en el ambiente natural es escaso, no obstante, se conoce que el desove es múltiple y depende de factores como la latitud y la temperatura, se produce en altamar durante la primavera, verano y otoño; con una fertilización externa y tanto los huevos como las

larvas son de hábitats pelágicos (Avilés y Castelló, 2004; Smith-Vaniz, 1995). Los juveniles llegan a alcanzar tallas por arriba de los 20 cm caracterizados por mostrar seis bandas oscuras a los costados (Allen y Robertson, 1994).

Es una especie depredadora de natación rápida y se alimenta principalmente de peces entre los que se encuentran la macarela, anchoveta y sardina; aunque su dieta también puede incluir invertebrados como los calamares (Avilés y Castelló, 2004). Al igual que otras especies de carángidos, el jurel pez fuerte presenta una alta capacidad de desplazamiento, siendo una especie migratoria sobre todo para la búsqueda de sitios de desove (Avilés y Castelló, 2004; Honebrink, 2000; Smith-Vaniz, 1995).

Dada su distribución, la captura de las especies pertenecientes al género *Seriola* se realiza con facilidad no sólo para fines de pesca o cultivo, ya que su carne es apreciada en la cocina asiática y europea para la preparación de sashimi, teriyaki y sushi, mostrando un alto valor comercial (Avilés y Castelló, 2004), sino que también son altamente estimados para la pesca deportiva, en donde se han registrado tallas máximas de 190 cm y 80 kg de peso (Avilés y Castelló, 2004; Smith-Vaniz, 1995).

Debido a que *S. rivoliana* es una especie relativamente abundante que habita el Pacífico Mexicano, es factible la captura de alevines y juveniles del medio natural para su posterior cultivo. Además, son organismos fáciles de domesticar al aceptar el encierro en jaulas así como el alimento que se les otorga en la superficie del agua promoviendo un crecimiento rápido (Avilés y Castelló, 2004). Estos aspectos han favorecido el inicio de su cultivo piloto en las instalaciones del CIBNOR en Baja California Sur; por lo que muchos proyectos están dirigidos a aportar información que contribuyan en el manejo sustentable no sólo de los organismos en cautiverio sino también de poblaciones silvestres. En este estudio se planteó los objetivos de colaborar en el conocimiento de la genética de la especie, particularmente la de generar loci microsatélites y determinar la estructura poblacional en el Pacífico.

2.2 Diversidad genética

La genética de poblaciones es una rama de la genética encargada de estudiar el cambio o permanencia de las frecuencias alélicas a lo largo de las generaciones dentro y entre poblaciones en el espacio y tiempo, estudiando el efecto subyacente de las fuerzas evolutivas: mutación, migración, selección natural o deriva genética (Cabrero-Hurtado y Camacho, 2002; Hartl y Clark, 2007).

La diversidad o variabilidad genética corresponde a las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población, así como entre poblaciones de una especie (Piñero, 2008). Dentro de un estudio genético poblacional típico, se caracteriza la variación genética al interior de las especies, así como se intenta explicar las causas de dicha variación (Weir, 1996) y a partir de los resultados, una consecuencia práctica es proponer programas de manejo de las especies para fines de explotación o de conservación (Ward, 2000) o entender el proceso de especiación en sus etapas iniciales.

Para la estimación de la diversidad genética, se ha recurrido al uso de marcadores moleculares que permiten el análisis de regiones del ADN tanto nuclear como mitocondrial (Cornejo-Romero *et al.*, 2014). Estos muestran diferentes patrones de herencia y niveles de variación genética a escalas poblacionales como de especies estrechamente emparentadas (Jiménez y Collada, 2000). Los microsatélites son un tipo de marcador molecular caracterizados por presentar repeticiones consecutivas de secuencias de nucleótidos de 2-6 pares de bases (pb), distribuidos tanto en regiones codificantes como no codificantes en el genoma nuclear. Son co-dominantes, lo que permite diferenciar organismos homocigotos de heterocigotos. Además, son altamente polimórficos debido a su alta tasa de mutación permitiendo identificar genéticamente a individuos y a poblaciones (Liu y Cordes, 2004; Vázquez-Lobo y Morales-García, 2014). Con el uso de marcadores tipo microsatélites es posible obtener información acerca de las frecuencias alélicas de fragmentos del ADN en las poblaciones, así como la proporción de individuos heterocigotos. Gracias a su alta tasa mutacional permite evaluar procesos

evolutivos a escalas de tiempo recientes, siendo posible determinar el grado de ajuste que la especie presenta en su ambiente y al presentar una estructura genética, permite valorar la conectividad o flujo genético entre las poblaciones (Frankham *et al.*, 2010; Vázquez-Lobo y Morales-García, 2014).

2.3 Estructura genética poblacional

La estructura genética en una población hace referencia a la variación o diferenciación genética en relación a los patrones geográficos como lo son la distancia geográfica que existe entre subpoblaciones, la presencia de barreras ambientales y diferentes historias de vida que se presentan al interior de la distribución de la especie (Hamilton, 2009). Existen tres modelos principales de estructura poblacional: “el modelo panmítico” en donde la población en el ámbito de su distribución geográfica consiste en una unidad poblacional abierta y cada organismo presenta la misma probabilidad de aparearse aleatoriamente. El segundo es “el modelo de islas” donde cada subpoblación se encuentra aislada de otras subpoblaciones y el tercero corresponde al “modelo de aislamiento por distancia” en donde los individuos que se encuentran más cercanos geográficamente son más semejantes genéticamente (Cabrerro-Hurtado y Camacho, 2002; Hamilton, 2009).

Sin embargo, en los ambientes marinos se ha observado que ninguno de los tres modelos se ajusta a lo presentado en algunas especies como la langosta americana, copépodos y lapas (Serrato-Díaz *et al.*, 2013), por lo que en ellos se muestra un tipo de estructura denominado “*parches genéticos caóticos*” donde la variación entre los sitios no parece mostrar una clara tendencia geográfica o temporal dificultando establecer el modelo de estructuración genética (Selkoe *et al.*, 2010). Eldon *et al.* (2016) han propuesto a la selección, el sorteo del éxito reproductivo, la dispersión colectiva y cambios temporales en la dinámica de poblaciones locales; como mecanismos que pueden explicar este patrón.

El intercambio de genes entre las poblaciones de una especie se le denomina flujo genético o migración efectiva. Este representa un elemento esencial de la estructura poblacional, ya que determina hasta qué punto cada población de una especie corresponde a una unidad evolutiva independiente (Futuyama, 2009). Al haber un mayor flujo genético entre las poblaciones, estas evolucionan juntas como en el modelo panmítico, caso contrario, cada población evoluciona de manera semi-independiente (Slatkin, 1987). En el medio terrestre las poblaciones se encuentran limitadas unas de otras mediante barreras geográficas tales como mares, ríos, montañas u otras, que evitan la mezcla entre poblaciones. Sin embargo, muchas veces en el medio marino tales barreras no se encuentran perfectamente definidas y junto al movimiento de las masas de agua y la capacidad de dispersión de las especies marinas en sus diferentes etapas de vida, el flujo de genes entre las poblaciones se ve favorecido, y bajo el modelo de migración y deriva, se genera una homogeneidad genética (Knutsen *et al.*, 2003; Ward, 2006).

Las especies pelágicas migratorias no tienen barreras físicas aparentes que impidan el flujo de genes. A pesar de ello, existen estudios en este tipo de especies donde se ha reportado una significativa diferenciación genética como el trabajo de Alvarado-Bremer *et al.* (1998) en el atún ojo grande (*Thunus obesus*), González y Zardoya (2007) en la sardina europea (*Sardina pilchardus*) y Premachandra *et al.* (2017) en el jurel de castilla (*Seriola lalandi*). Dichas diferencias genéticas se han explicado debido a diversas propiedades intrínsecas y extrínsecas de la especie, como la presencia de barreras conductuales; la retención de larvas en zonas específicas; las barreras físicas provocadas por gradientes de temperaturas, salinidad, corrientes oceánicas y factores genéticos (selección, mutación, deriva genética y flujo genético) (Balloux y Lugon-Moullin, 2002; Knutsen *et al.*, 2003; García-de León *et al.*, 2018).

2.4 Estudios genéticos en el género *Seriola*

La mayoría de los estudios existentes dentro del género *Seriola* han sido para *S. dumerili* y *S. lalandi* dada la importancia económica que representa para países como Japón, Australia, Nueva Zelanda, Estados Unidos y la región del Mediterráneo.

El diseño de marcadores neutrales para la determinación de la estructura genética y los niveles de variación en las poblaciones naturales del género *Seriola* estuvo a cargo de Nugroho y Taniguchi (1999) al diseñar seis loci microsatélites en *S. dumerili* y aplicarlos en otras tres especies del género (*S. rivoliana*, *S. quinqueradiata* y *S. lalandi*). El aislamiento y caracterización de loci microsatélites (di, tri y tetranucleótidos) continuó en *S. dumerili* (Babbucci *et al.*, 2006; Renshaw *et al.*, 2006; Renshaw *et al.*, 2007), también se diseñaron cinco loci en *S. quinqueradiata* que fueron exitosos para la amplificación cruzada en *S. lalandi* y *S. dumerili* (Ohara *et al.* 2003). Renshaw *et al.* (2012) evaluaron los loci creados para *S. dumerili* (Renshaw *et al.*, 2006; Renshaw *et al.*, 2007) tanto para dicha especie como para cuatro más (*S. fasciata*, *S. lalandi*, *S. rivoliana* y *S. zonata*) caracterizándose 31 microsatélites, los cuales fueron empleados en estudios genéticos poblacionales posteriores. Respecto al marcadores mitocondriales, Renshaw y Gold (2009) diseñaron cebadores para la identificación de cuatro especies de *Seriola* (*S. dumerili*, *S. fasciata*, *S. zonata* y *S. rivoliana*) en el Atlántico Sur y el Golfo de México además de implementar el multiplexeo por PCR.

Los estudios genéticos poblacionales están mayor representados por el jurel de Castilla (*S. lalandi*) al ser una especie marina con distribución circunglobal, ha permitido determinar sus poblaciones para el manejo de las pesquerías. Investigaciones que hicieron uso de microsatélites y ADN mitocondrial (RC región control, Cyt b citocromo b, COI citocromo oxidasa subunidad 1, 12S rRNA, NADH deshidrogenasa subunidad 4 y 5, genes tRNA) indicaron cuatro poblaciones genéticamente diferentes en el mundo: la población del Pacífico Noroeste, del Pacífico Noreste, Pacífico Sur y Atlántico Sureste (Nugroho *et al.*, 2001; Miller *et al.*,

2011; Purcell *et al.*, 2015; Swart *et al.*, 2016); mientras que el trabajo de Sepúlveda y González (2016) detectó una estructura genética espacial y temporal en el Pacífico Sureste, sugiriendo a esta zona como un sitio de mezcla de al menos dos poblaciones genéticas diferentes. La investigación de Martínez-Takeshita *et al.* (2015) reportó con datos mitocondriales y nucleares la existencia de tres especies crípticas para *S. lalandi*, que también fueron propuestas por Purcell *et al.* (2015). A pesar de ello, Premachandra *et al.* (2017) además del uso de ADN mitocondrial y loci microsatélites, implementaron el uso de SNPs; los resultados demostraron que las estimaciones divergentes respaldan más la presencia de tres poblaciones en el Pacífico (Noroeste, Noreste y Sur) que tres especies diferentes.

Poca ha sido la literatura dirigida a determinar poblaciones genéticas en *S. dumerili*, la especie hermana filogenéticamente de *S. rivoliana* (Swart *et al.*, 2015). El hallazgo de Hargrove *et al.* (2018) con el uso de 11 loci microsatélites fue una baja pero significativa diferenciación genética entre crías y entre reproductores colectados en el Golfo de México y los pertenecientes a Florida (Atlántico). Posteriormente, el trabajo a cargo de Šegvić-Bubić *et al.* (2016) evaluó la diversidad genética entre individuos de *S. dumerili* del Mar Mediterráneo y del océano Atlántico haciendo uso de ocho microsatélites diseñados para la especie y tres regiones mitocondriales (Cyt b, COI y D-loop), este es la única investigación que ha considerado el estudio de poblaciones de *S. rivoliana*. En este trabajo se reportó un locus que permitió separar a la población de *S. rivoliana* de las poblaciones de *S. dumerili*.

De acuerdo a las investigaciones realizadas en *S. lalandi* presenta un patrón genético de aislamiento por distancia a nivel inter oceánico (Miller *et al.*, 2011; Purcell *et al.*, 2015), mientras que en *S. dumerili* los estudios han sido a una escala menor reportando que las dinámicas temporales de desove y los patrones de circulación del mar, generan una barrera que limitan el flujo genético dentro del mar Mediterráneo (Šegvić-Bubić *et al.*, 2016).

3. JUSTIFICACIÓN

El jurel (*S. rivoliana*) es un recurso con un alto valor comercial porque forma parte de una importante producción acuícola en el ámbito de la pesca y acuicultura. Además, debido a que el cultivo de *S. rivoliana* se está emergiendo en el mundo y particularmente en México, es importante generar información que contribuya al manejo y desarrollo sustentable en los sistemas de cultivo, así como en poblaciones silvestres.

El determinar la estructura genética de esta especie, además de contribuir con el conocimiento genético elemental y dar pie a estudios genético poblacionales futuros, favorecerá a la creación de programas orientados al mantenimiento de su diversidad genética y al aseguramiento de su potencial evolutivo, lo que le ayudará a adaptarse a las condiciones ambientales cambiantes.

Al conservar la variabilidad genética se contribuye a la presencia de una variedad de tamaños, comportamientos y colores, atributos que son apreciados en las pesquerías y en la práctica de pesca deportiva. Además, la información generada ofrecerá un beneficio para la industria acuicultora al aumentar la viabilidad de los individuos, así como minimizar problemas de endogamia en la selección de los reproductores.

El conocimiento de las poblaciones naturales también permite localizar sitios de ocurrencia de larvas, con lo cual se puede evitar alteraciones por escapes accidentales durante el cultivo y también puede contribuir en la identificación de stocks pesqueros que permita una administración sustentable del recurso.

4. HIPÓTESIS

Dado el alto nivel de polimorfismo de los microsatélites, se espera detectar diferencias en frecuencias alélicas de los loci analizados en los individuos para los diversos sitios de muestreo que permitan detectar poblaciones homogéneas.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la estructura genética poblacional del jurel (*S. rivoliana*) en el océano Pacífico mediante el uso de microsatélites.

5.2 Objetivos particulares

- Evaluar la variabilidad genética del jurel (*S. rivoliana*) de los diferentes sitios de recolecta en el océano Pacífico mediante 20 loci microsatélites.
- Determinar el tipo de estructura genética que muestra la especie a lo largo del océano Pacífico.
- Determinar los niveles de diversidad genética intrapoblacional.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Área de estudio y obtención de muestras biológicas

Se obtuvieron un total de 175 organismos: 133 de ellos provenientes del medio natural y 42 obtenidos del cultivo de la especie en las instalaciones del CIBNOR correspondientes a los reproductores (San José del Cabo y San Evaristo) y los organismos de la F1. Los sitios de colecta para el presente estudio corresponden a 13 localidades que comprenden a los países de Estados Unidos, México y Panamá (Fig.3, Tabla I).

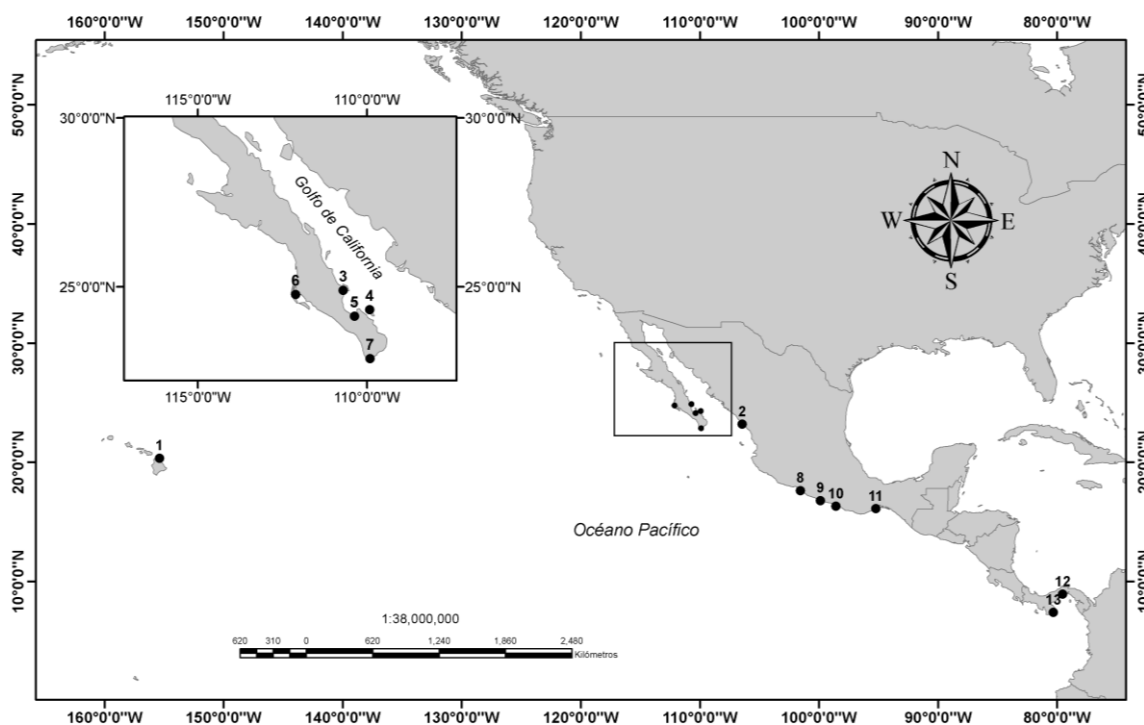


Figura 3. Sitios de recolecta empleados para el análisis genético de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico. Los números indican las localidades: 1= Hawái, 2=Mazatlán, 3=San Evaristo, 4=Isla Cerralvo, 5=Cultivo F1, 6= Ciudad Constitución, 7= San José del Cabo, 8=Zihuatanejo, 9=Acapulco, 10= Punta Maldonado, 11=Oaxaca, 12= Ciudad de Panamá y 13= Península de Azuero.

Tabla I. Individuos recolectados para los análisis genéticos. Número de individuos por localidad (N). Número de individuos amplificados para el gen COI (NCOI). Número de organismos identificados como *Seriola rivoliana* (Id). Número de individuos utilizados para el genotipado (NG).

Sitio	Nombre	Clave	Estado	País	N	COI	Id	NG
1	Hawái	HAW		Estados Unidos	56	46	46	46
2	Ciudad Constitución	CDC	Baja California Sur	México	2	2	2	2
3	San José del Cabo	SJC	Baja California Sur	México	21	-	-	21
4	Isla Cerralvo	IC	Baja California Sur	México	2	2	2	2
5	San Evaristo	SE	Baja California Sur	México	11	-	-	11
6	Cultivo F1	F1	Baja California Sur	México	10	-	-	10
7	Mazatlán	MAZ	Sinaloa	México	4	4	4	4
8	Zihuatanejo	ZIH	Guerrero	México	2	2	2	2
9	Acapulco	ACA	Guerrero	México	41	41	29	29
10	Punta Maldonado	PMA	Guerrero	México	2	2	2	2
11	Oaxaca	OAX	Oaxaca	México	3	3	2	2
12	Ciudad de Panamá	PAN		Panamá	8	8	8	8
13	Península de Azuero	PA		Panamá	13	13	13	13
Total					175	123	110	152

Los organismos fueron recolectados de manera aleatoria mediante el uso de arpón, por compra en mercados al interior de las localidades y otros más fueron donaciones por parte de algunas cooperativas, así como del Dr. David Portnoy de la Universidad de Texas A&M en Corpus Christy y del Dr. Carlos Vergara-Chen de la Universidad Tecnológica de Panamá. A cada organismo se le cortó una porción de aleta, preservando el tejido en viales con alcohol al 96%.

6.2 Extracción de ADN e identificación de individuos

Las muestras fueron procesadas y depositadas en la colección del Laboratorio de Genética para la Conservación dentro de las instalaciones del CIBNOR.

La extracción del ADN se realizó con el método modificado de extracción de sales (Sambrook *et al.*, 1989). La concentración del ADN extraído se cuantificó con un espectrofotómetro NanoDrop 8000 (Thermo Scientific™). La integridad del ADN se evaluó con geles de agarosa al 1% (buffer TBE 1X) corridos a 100 V durante 30 min, empleando como marcador de alto peso molecular Lambda DNA/HindIII (Thermo Scientific™). Los geles se visualizaron en un fotodocumentador UVP BioDoc-It ®. Las extracciones corresponden al ADN stock y a partir de ellas se prepararon soluciones de trabajo, diluyendo el ADN a una concentración de 50 ng/μl con agua miliQ obtenida en el sistema Simplicity UV® (Millipore). Las soluciones se almacenaron en tubos eppendorf de 1.5 ml en un congelador a -20°C.

Debido a la incertidumbre taxonómica sobre las muestras del medio natural obtenidas por diferentes colaboradores, se realizó una identificación de las mismas empleando el fragmento del gen **COI** del ADN mitocondrial, para asegurarse que los tejidos correspondan a la especie *S. rivoliana*. Este fragmento de gen mitocondrial, a pesar de ser una secuencia corta (648 pb) permite la identificación de los organismos del reino animal, además de que su secuenciación es rápida y de bajo costo (Ward *et al.*, 2009). Cada muestra fue amplificada por PCR en un

volumen final de reacción de 35 µl formado por: 1X Buffer (Invitrogen™), 2.5 mM de MgCl₂ (Invitrogen™), 0.07 U de Taq DNA Polimerasa (Invitrogen™), 0.08 mM de dNTPs (Invitrogen™), 0.085 mM de cada **primer** FISH-F1 (**forward**) y FISH-R1 (**reverse**) y 1 µl del ADN de trabajo (50 ng/µl), los primers fueron obtenidos de Ward *et al.* (2005). La amplificación se realizó en un termociclador SimpliAmp (Applied Biosystems) de 96 pozos. El programa contó con una desnaturalización inicial de 94°C por cinco min y 35 ciclos que constaron de una desnaturalización de 94°C por un minuto, un alineamiento de 56°C por un minuto, una extensión de 72°C por tres minutos y la extensión final de 72°C durante 10 minutos. Los productos de PCR se verificaron en geles de agarosa al 1% (buffer TBE 1X) corridos a 100 V durante 30 min utilizando un marcador de peso molecular de 50 pb (Sigma-Aldrich®). Los geles se visualizaron en un fotodocumentador UVP BioDoc-It ®. Los productos de PCR fueron enviados a secuenciar a Seúl Korea a la empresa MacroGen, Inc. La identidad de cada secuencia generada fue verificada mediante BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), un algoritmo informático que permite realizar un alineamiento y comparaciones de secuencias con una base de datos, arrojando aquellas que presentan una mayor similitud con la secuencia problema; utilizando la base de datos del GenBank del NCBI (National Center for Biotechnology Information), con el fin de corroborar que cada secuencia corresponda a la especie de estudio.

6.3 Diseño y estandarización de loci microsatélites

Se diseñaron marcadores microsatélites para esta especie. A pesar de que esta actividad no se realizó en la presente investigación, se describe el procedimiento. A partir de un individuo identificado como Sriv4 proveniente del cultivo en las instalaciones del CIBNOR, se extrajo ADN genómico de alta calidad empleando el kit de purificación EZNA DNA (Omega Bio-Tec, Norcross, GA). Se construyeron librerías de ADN compatibles con la tecnología Illumina TruSeq a través de la fragmentación de ADN en un equipo de sonicación Bioruptor UCD-300 (Diagenode,

Denville, NJ). Una vez comprobada su calidad y normalizadas, fueron corridas en la plataforma Illumina MiSeq v2 500 cycle kit en el *Georgia Genomics Facility* de la Universidad de Georgia (Atlanta). Se obtuvo un total de 1844 **contigs** generados por secuenciación masiva de última generación. Los contigs fueron ingresados al programa Msatcomander (Faircloth, 2008) para la detección de microsatélites. Se buscaron aquellos que fueran tetranucleótidos perfectos con un mínimo de cinco repeticiones, encontrando un total de 456 secuencias. A partir de ellas se seleccionaron 50 tetranucleótidos para el diseño de los pares de primers bajo las siguientes especificaciones:

- a) Temperaturas de alineamiento entre los 50 y 70°C, con tres grados centígrados como máxima diferencia entre los primers.
- b) Producto de PCR entre los 90-350 pb de longitud.
- c) Contenido de GC (guanina-citosina) superior al 40%.
- d) Longitud del primers presente de 18-20 nucleótidos.
- e) Criterios de auto-complementariedad y calidad con los parámetros por defecto.

Los 50 pares de primers seleccionados se sometieron a pruebas de polimorfismo, para lo cual se realizaron reacciones de amplificación por PCR de punto final con diferentes gradientes de temperatura (58, 60 y 62°C) y concentraciones de MgCl₂ (1.5 y 2 mM) para establecer las mejores condiciones de amplificación de cada primer. Se eligieron 20 primers para el posterior marcaje del *primer forward* con un tipo de fluorescencia: PET (rojo), NED (negro), VIC (verde) y 6FAM (azul), empleando como criterios de selección la detección de diferentes tamaños de fragmentos, sin que se manifestara multibandeo (Tabla II).

Una vez estandarizados cada par de iniciadores, se amplificó el ADN de 152 individuos identificados por el gen COI como *S. rivoli* (Tabla I) con los 20 loci microsatélites mediante la técnica de PCR de punto final. La amplificación se realizó en un termociclador SimpliAmp marca Applied Biosystems de 96 pozos. Se hizo en

una mezcla de reacción con un volumen total de 10µl: 1µl de ADN (50 ng/µl), 1x de Taq 2XMaster Mix New England BioLabs® (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂ y 0.125 U/µl de Taq DNA Polimerasa), 0.25 µM de cada loci microsatélite (forward y reverse) y 3.5 µl de agua miliQ.

El programa de amplificación contó con una desnaturalización a 94°C por cinco minutos; 35 ciclos con una desnaturalización inicial a 95°C por 30 s, un paso de alineamiento de 60°C por 30 s, un paso de extensión a 72°C por 30 s y un tiempo de extensión final de 10 min a 72°C. Los productos de PCR se verificaron en geles de agarosa al 2% (buffer TBE 1X) corridos a 80 V durante 40 min, empleando un marcador de peso molecular de 10 pb Invitrogen®. Para confirmar la amplificación los geles se visualizaron en un fotodocumentador UVP BioDoc-It®.

Para el análisis de fragmentos que permite la detección de los tamaños alélicos, se empleó la técnica nombrada como *poolplex*. Esta técnica consiste en combinar productos de PCR para la reducción de costos y tiempo de análisis (Olivas-Hernández, 2018). Se emplearon cuatro combinaciones (*poolplex*), cada combinación contó con cinco loci microsatélites y se elaboraron de acuerdo al tamaño y al color del fluoróforo (Tabla II). Cada combinación incluyó dos loci de igual color, tomando en consideración que las tallas esperadas fueran diferentes entre ellos, existiendo al menos 50 pb entre los extremos mayor y menor de los marcadores de menor y mayor tamaño respectivamente (Getino-Mamet, 2016).

Los productos de PCR fueron diluidos a 1:15 para la lectura de las tallas alélicas. El análisis de fragmentos, se realizó bajo el servicio proporcionado por *Roy J. Carver Biotechnology Center* de la Universidad de Illinois. Dichos análisis se efectuaron en un secuenciador ABI3730xl de 96 capilares.

Tabla II. Loci microsatélites empleados en sistema *poolplex*. Color de fluoróforo: **PET (rojo)**, **NED (negro)**, **VIC (verde)** y **6FAM (azul)**.

Combinaciones	Locus	Color	Rango
Combinación 1 (C1)	<i>Sriv5</i>	PET	130-146
	<i>Sriv7</i>	NED	194-218
	<i>Sriv43</i>	VIC	148-212
	<i>Sriv18</i>	6FAM	170-174
Combinación 2 (C2)	<i>Sriv24</i>	PET	304-312
	<i>Sriv15</i>	PET	234-242
	<i>Sriv21</i>	NED	284-332
	<i>Sriv11</i>	VIC	138-154
Combinación 3 (C3)	<i>Sriv45</i>	6FAM	143-175
	<i>Sriv46</i>	NED	108-202
	<i>Sriv44</i>	PET	199-259
	<i>Sriv20</i>	NED	224-276
Combinación 4 (C4)	<i>Sriv16</i>	VIC	200-244
	<i>Sriv29</i>	6FAM	214-254
	<i>Sriv8</i>	VIC	286-338
	<i>Sriv35</i>	PET	152-196
Combinación 4 (C4)	<i>Sriv34</i>	NED	94-120
	<i>Sriv42</i>	VIC	215-275
	<i>Sriv32</i>	6FAM	76-108
	<i>Sriv28</i>	6FAM	247-255

Nota: para información de las secuencias (forward y reverse) de los microsatélites, motivo repetido, temperatura de alineamiento o concentración de $MgCl_2$; contactar con el director de la presente investigación.

6.4 Genotipificación de individuos

El genotipado se realizó empleando el programa Geneious Prime versión 2019.2.1 haciendo uso del plugin *Microsatellite*. Primero se efectuó la revisión de la escalera (LIZ600), eliminando los archivos donde no haya corrido, se ajustaron los valores en aquellas muestras donde la escalera se mostró desfasada y se verificó que todas ellas iniciaran en el pico 60 y terminaran en 600 de antes de su alineamiento. Posteriormente se configuraron los loci de acuerdo a su información (color de fluorescencia, nombre, número de picos esperados = 2, unidades repetidas = 4 y rango). Después de realizar las correcciones y configuraciones necesarias, se procedió a la creación de bins (contenedor que permite el reconocimiento de un alelo de manera automática) para las lecturas.

Para la asignación de tallas alélicas se tomó en consideración:

- 1) Aquellos picos que presentaran una intensidad igual o mayor a 200 unidades de fluorescencia relativa (RFU por sus siglas en inglés), siempre y cuando pudieran diferenciarse del ruido de fondo.
- 2) Se identificó como organismo heterocigoto cuando el pico de mayor tamaño lo fuera en al menos un 25% con respecto al de menor tamaño.
- 3) Se identificó como organismo heterocigoto cuando el pico de menor intensidad alcanzó el 50% respecto a la talla del pico de mayor tamaño.

Los puntos 2) y 3) se efectuaron de forma manual para detectar la presencia de artefactos de amplificación (*stutters o tartamudez*) y evitar confundirlos con un pico verdadero.

Las tallas se exportaron en formato .csv para ser abiertos en el programa Microsoft Excel 2016®.

6.5 Análisis de datos

Para verificar la calidad y utilidad de los loci, se realizaron diferentes análisis. Primeramente, se descartó a los individuos que presentaron más del 20% de loci faltantes, por lo que la matriz de datos disminuyó de 152 a 146 individuos, se excluyó individuos de las siguientes localidades: HAW (número excluido=2, número total actual= 44), F1 (número excluido=2, número total actual =8) y ACA (número excluido=2, número total actual= 27) (ver Tabla I para acrónimos). Debido a que el tamaño de muestra por localidad fue variable, se ejecutaron análisis exploratorios con las localidades con menos de 20 individuos. Sin embargo, los resultados obtenidos con esos ensayos preliminares fueron similares a los obtenidos con la base de datos con todas las localidades, por lo que se decidió emplear la matriz original con los 146 individuos.

6.5.1 Calibración de loci microsatélites

6.5.1.1 Alelos nulos

Un alelo nulo es un alelo que a pesar de estar presente, éste no logra amplificarse por PCR debido a alguna mutación en el sitio donde hibrida el iniciador, lo que genera un falso homocigoto (Shaw *et al.*, 1999) y conduce a una subestimación de heterocigosidad (Carlsson, 2008). La presencia de alelos nulos se evaluó por locus a través del uso del algoritmo de Maximización de la Expectativa (Dempster *et al.*, 1977) en el programa FreeNA (Chapuis y Estoup, 2007), donde los autores establecen que la proporción de alelos nulos pueden categorizarse como como bajo: <0.05 , medio: $0.05-0.20$ y alto: >0.20 . Se empleó también el programa Micro-Cheker v.2.2.3 (Van-Oosterhout *et al.*, 2004), el cual permite determinar si la presencia de alelos nulos se debe a la pérdida de alelos grandes, a errores de genotipificación o a la tartamudez alélica.

6.5.1.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg:

El equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) se trata de un modelo que establece que las frecuencias alélicas de una población se mantendrán constantes a través de las generaciones al existir una reproducción sexual aleatoria, un tamaño poblacional infinito y que estén ausentes la mutación, migración y selección natural (Getino-Mamet, 2016). Para evaluar si existe un desvío del EHW en cada localidad, se utilizó el programa Arlequin v. 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer 2010) con 1,000,000 de pasos en la cadena de Márkov y 100,000 dememorizaciones. La significancia estadística ($\alpha = 0.05$) se ajustó mediante la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples (Rice, 1989).

6.5.1.3 Desequilibrio de ligamiento:

Para garantizar una segregación independiente de los loci, este análisis se elaboró mediante el programa GENEPOP v.4.6 (Rousset 2008) utilizando un test exacto de Fisher bajo la hipótesis nula de independencia entre locus, empleando como parámetros 10,000 dememorizaciones, 100 lotes y 10,000 iteraciones por lote para las cadenas de Márkov. Posteriormente la significancia estadística ($\alpha = 0.05$) se adecuó mediante la corrección de Bonferroni (Rice, 1989).

6.5.1.4 Loci bajo selección:

Aunque los microsatélites son considerados como marcadores neutrales, este supuesto debe ponerse a prueba y para ello se realizó la detección de loci bajo selección en el programa Arlequin v. 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer 2010), estimando los valores de F_{ST} de cada locus e identificando aquellos valores que son significativamente diferentes que los obtenidos a través simulaciones coalescentes mediante un modelo de isla jerárquico (Excoffier *et al.*, 2009). Para ello se emplearon 20 000 simulaciones y 100 demes a simular por grupo. El número de

grupos corresponde al obtenido en STRUCTURE ($K=5$). Los loci resultantes bajo selección se buscaron en la base de datos del GenBank para determinar si codifican para algún gen.

6.5.2 Análisis de estructura genética

Para dar respuesta al objetivo de estructura genética de la especie a lo largo del Océano Pacífico, se emplearon diferentes análisis para comparar los resultados debido a que cada uno cuenta con métodos y supuestos diferentes.

6.5.2.1 Análisis de agrupación bayesiana

Para inferir el número más probable de poblaciones (K) se empleó programa STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2007), el cual supone que las poblaciones se encuentran en EHW y presentan un desequilibrio de ligamiento, lo cual fue previamente valorado con los procedimientos anteriores. Agrupa a los individuos a un número específico de poblaciones de acuerdo a sus frecuencias alélicas por medio de cadenas de Márkov Monte Carlo (MCMC) (Pritchard *et al.*, 2000) y probabilidades bayesianas para encontrar la mejor solución. Los parámetros empleados fueron 100,000 iteraciones de MCMC, con un precalentamiento de 10,000; se asumió un modelo de mezcla y de frecuencias alélicas correlacionadas, con 13 poblaciones a probar ($K= 1$ a 13) considerando a cada localidad como una población y 10 repeticiones para cada K . El número óptimo de grupos para datos simulados se determinó empleando el estadístico de Evanno (ΔK) (Evanno *et al.*, 2005) mediante el programa en línea STRUCTURE HARVESTER (Earl y Vonholdt, 2012). Por último, la unión óptima de las réplicas de cada K se realizó en el programa CLUMPAK (Jakobsson y Rosenberg, 2007), las figuras se generaron con el programa Distruct v1.1 (Rosenberg, 2004). Se ejecutó una primera corrida donde se incluyeron los 20 loci de los 146 individuos

pertenecientes a las 13 localidades. Con base al resultado de la primera corrida, se realizaron otras de manera independiente y jerárquica hasta ya no encontrar subgrupos genéticos, considerando para cada análisis a los individuos que en la corrida anterior hayan presentado un valor de $q < 0.80$, donde q corresponde al coeficiente de ancestría o proporción de membresía (Vähä *et al.*, 2007). El análisis de agrupación bayesiana también se realizó sobre una base de datos con loci estrictamente neutrales y los que resultaron estar bajo selección.

6.5.2.2 Análisis Discriminante de Componentes Principales (ADCP)

Se realizó un Análisis Discriminante de Componentes Principales (ADCP) este análisis mediante el uso del paquete *ade4* v.2.1.1 para R v.3.6.0 (R Core Team, 2020). A diferencia de STRUCTURE, este procedimiento no asume ningún supuesto de genética poblacional como el EHW, desequilibrio de ligamiento, además de que permite maximizar la separación de grupos (Jombart, 2008), haciéndolo muy útil para determinar diferencias genéticas entre grupos de individuos que muestren homogeneidad genética entre sí. Para identificar el número más probable de grupos se utilizó la función *find.clusters* que emplea el método de Criterio de Información Bayesiana (BIC) y se empleó el método de validación cruzada mediante la función *xvalDapc*, en donde los datos se dividen en dos conjuntos: uno de entrenamiento y otro de validación, lo cual contribuye a seleccionar el modelo con la mayor precisión y menor error promedio. Este procedimiento permite identificar el número adecuado de componentes principales a retener para el análisis (Jombart *et al.*, 2010, Jombart y Collins, 2015).

6.5.2.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

Este análisis determina la variación genética al interior de cada grupo y subgrupo, así como entre ellos; mediante un análisis jerarquizado con una matriz de distancias (Excoffier *et al.*, 1992) a partir de los estadísticos de F de Wright (Weir y Cockerham, 1984). Este es un método heurístico, que ayuda a encontrar el mejor modelo de estructuración genética. Los modelos con las agrupaciones de los diferentes sitios de muestreo se definen de manera previa, lo que permite evaluar diferentes escenarios y compararlos para entender el porcentaje de la varianza genética que se explica en cada nivel y cuál de esas agrupaciones maximiza la varianza entre los grupos al mismo tiempo que se minimiza al interior de los mismos. El análisis se realizó en el programa Arlequin v. 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer 2010) probándose tres escenarios:

- Dos poblaciones: dada la presencia de la Barrera del Pacífico Oriental (BPO), separando a las localidades en la población de HAW y la población del Pacífico Oriental Tropical (POT) integrado por las 12 localidades restantes.
- Tres poblaciones: además de la división por la EPB, las localidades al interior del POT se dividen en la población del Golfo de California (GC) formada por las localidades de IC-SE-MAZ y en la población de la Costa del Pacífico (COP) constituida por las localidades de F1-CDC-SJC-ZIH-ACA-PMA-OAX-PAN-PA.
- Grupos detectados por STRUCTURE ($K=5$)

6.5.2.4 Índice de fijación

El índice de fijación de Wright (F_{ST}) mide el grado de la diferenciación genética entre las poblaciones a través de la comparación de las frecuencias alélicas. Aunque Wright (1951) lo definió para un locus con dos alelos, Nei (1973) extendió la definición de manera que se englobaran loci multialélicos, cuyo concepto se basa en la comparación de la heterocigosis total esperada en la población y la

heterocigosis promedio esperada al interior de las subpoblaciones, denominándolo como G_{ST} (Piñero, 2008; Alcalá *et al.*, 2014). El valor de F_{ST} manifiesta la divergencia genética y toma valores de cero a uno, donde los valores de F_{ST} igual a cero representan una homogeneidad genética, mientras que los valores significativamente mayores a cero señalan una diferenciación genética. Se estimaron los valores de F_{ST} por pares de localidades y su nivel de significancia en el programa Arlequin v. 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer 2010) empleando 10,000 dememorizaciones y 100,000 pasos en la cadena de Markov. La significancia estadística ($\alpha= 0.05$) se ajustó mediante la corrección de Bonferroni (Rice, 1989).

6.5.3 Análisis de diversidad genética intrapoblacional

Una vez determinado el número de poblaciones, se describió la variabilidad genética de cada una de ellas a través del cálculo de los estimadores de diversidad genética: número de alelos (N_a), número de alelos efectivos (N_e), heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada (H_e), empleando el programa GENEALLEX 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). Se comprobó la presencia de diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) en los estimadores H_o y H_e ; a través de la comparación por pares de poblaciones. Debido a que los datos no mostraron una distribución normal mediante la aplicación del test de Shapiro-Wilk ($p<0.05$) y el test homogeneidad de varianzas de Levene fue significativamente diferente de cero ($p< 0.05$); se empleó el test de Wilcoxon, prueba no paramétrica para la comparación pareada. La significancia estadística ($\alpha= 0.05$) se ajustó mediante la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples (Rice, 1989). Los análisis se elaboraron haciendo uso de los paquetes STATS v.3.6.0 y CAR v.3.0-6 para R v.3.6.0 (R Core Team, 2020).

7. RESULTADOS

7.1 Extracción de ADN e identificación de individuos

La concentración de ADN de los individuos varió entre 11.88-1222ng/μl. El ADN fue re-extraído si presentó una concentración inferior a 50 ng/μl. De los 133 organismos provenientes del medio natural, 123 lograron amplificar para el gen COI, sin embargo, sólo 110 se identificaron como *S. rivoliana*, el resto de las muestras se identificaron como otra especie (entre ellas *S. dumerili* y *S. peruviana*). Finalmente, el total de individuos utilizados para los análisis fue de 146 (HAW= 46, CDC= 2, SJC= 21, IC= 2, SE= 11, F1= 10, MAZ= 4, ZIH= 2, ACA= 29, PMA= 2, OAX= 2, PAN= 8 y PA= 13).

7.1 Calibración de loci microsatélites

7.1.1 Alelos nulos

En la Tabla III se presenta el valor promedio de las proporciones de alelos nulos realizados en FreeNa. Se determinó que los loci *Sriv46* y *Sriv32* presentaron valores medios o moderados (0.05-0.2), el resto presentó valores bajos. De las 260 comparaciones del total de loci y localidades, el 5.77% presentó una alta frecuencia de alelos nulos (>0.20), el 5.38% una frecuencia moderada y el 32.31% frecuencias bajas o insignificantes (<0.05), mientras que el 56.54% no presentó alelos nulos (Anexo A). Los resultados obtenidos por Micro-Cheker indicaron que la presencia de los alelos nulos se debió por el exceso de homocigotos, no se detectó pérdida de alelos grandes ni posibles errores de tartamudez alélica.

Tabla III. Frecuencia de alelos nulos para los 20 loci microsatélites empleados en *Seriola rivoliana*, determinados mediante el programa FreeNA. Valores bajos (<0.05), medios (0.05-0.20) representados en negritas. Para las frecuencias de alelos nulos por localidad ver Anexo A.

Locus	Alelos nulos	Locus	Alelos nulos
Sriv5	0.0314	Sriv44	0.0243
Sriv7	0.0011	Sriv20	0.0250
Sriv43	0.0007	Sriv16	0.0274
Sriv18	0.0003	Sriv29	0.0345
Sriv24	0.0090	Sriv8	0.0046
Sriv15	0.0035	Sriv35	0.0021
Sriv21	0.0264	Sriv34	0.0209
Sriv11	0.0007	Sriv42	0.0076
Sriv45	0.0263	Sriv32	0.1184
Sriv46	0.1453	Sriv28	0.0085

7.1.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg:

En la Tabla IV se presentan los valores con diferencias significativas (para los valores de todos los loci y todas las localidades ver Anexo A). Cinco de las 13 localidades (HW, SJC, SE, ACA y PA) presentaron al menos un locus en desequilibrio de Hardy-Weinberg después del ajuste de Bonferroni, mientras que 12 loci (*Sriv5*, *Sriv7*, *Sriv43*, *Sriv18*, *Sriv24*, *Sriv46*, *Sriv20*, *Sriv16*, *Sriv35*, *Sriv34*, *Sriv42* y *Sriv32*) presentaron desviaciones significativas en al menos una localidad, siendo los loci *Sriv46* y *Sriv32* los más frecuentes al estar presentes en tres localidades (HW, SJC, ACA). Diez localidades mostraron loci monomórficos, por lo que no se realizó el análisis de EHW. El locus *Sriv11* manifestó el mayor número de localidades con monomorfismo.

Tabla IV. Valores significativos (*) del desequilibrio de Hardy-Weinberg de loci microsatélites por localidad después de la corrección de Bonferroni ($p \leq 0.0025$). Locus monomórfico (M). Para los valores de H_o , H_e y p -value ver Anexo A.

	Sriv 5	Sriv 7	Sriv 43	Sriv 18	Sriv 24	Sriv 15	Sriv 21	Sriv 11	Sriv 45	Sriv 46	Sriv 20	Sriv 16	Sriv 35	Sriv 34	Sriv 42	Sriv 32
HW				*						*						*
CDC				M		M		M		M		M				
SJC										*				*		*
IC	M					M		M								
SE								M				*				
F1	M			M		M		M	M			M				
ZIH				M						M		M	M			
ACA										*		M				*
PMA								M			M	M		M		
OAX						M		M			M	M		M		
PAN				M		M		M		M		M		M		
PA	*	*	*	*	*	M	M	M	M		*			*	M	*

7.1.3 Desequilibrio de ligamiento

Se realizaron 190 combinaciones entre pares de loci y después de la corrección de Bonferroni ($p \leq 0.00026$) se encontraron cinco pares de loci ligados de forma significativa (Tabla V). Al buscarse en la base de datos del GenBank del NCBI, no se detectaron dentro de un mismo gen, por lo que el resultado del análisis fue presuntamente una correlación y los loci no fueron descartados para los análisis de estructura posteriores.

Tabla V. Pares de loci ligados para *Seriola rivoliana* con valor de p significativo después del ajuste de Bonferroni ($p \leq 0.00026$).

Locus 1	Locus 2	<i>p-value</i>
<i>Sriv5</i>	<i>Sriv43</i>	0.000001
<i>Sriv43</i>	<i>Sriv24</i>	0.000001
<i>Sriv43</i>	<i>Sriv20</i>	0.00001
<i>Sriv7</i>	<i>Sriv42</i>	0.000056
<i>Sriv20</i>	<i>Sriv42</i>	0.000088

7.1.4 Loci bajo selección

Se mostraron resultados significativos para los loci *Sriv16* y *Sriv34*, al localizarse por encima del intervalo de confianza del 99%, por lo que son candidatos a estar bajo selección positiva (Tabla VI y Fig. 4). La secuencia del locus *Sriv16* se alineó con un ARN mensajero (ARNm) de *S. lalandi* y *S. dumerili* correspondiente a una quinasa dependiente de ciclina (*cdk14*); mientras que *Sriv34* se mostró presente en un ARNm en ambas especies también, como potenciador de una proteína de unión 2 (*hipev2*). A pesar de estos resultados, ambos loci se emplearon en conjunto con los loci neutrales para los análisis de agrupación bayesiana, como en un análisis independiente para comparar los resultados.

Tabla VI. Valores obtenidos para la detección de loci candidatos a selección en *Seriola rivoliana*. Se muestran en rojo los loci bajo selección positiva ($p < 0.01$). Heterocigosidad observada entre poblaciones (HoEP), valor de F_{ST} observado (F_{STO}), p -value de F_{ST} (p -value).

No. Locus	Locus	Ho EP	F_{STO}	p -value
1	<i>Sriv5</i>	0.605	0.129	0.467
2	<i>Sriv7</i>	0.747	0.034	0.016
3	<i>Sriv43</i>	0.926	0.070	0.146
4	<i>Sriv18</i>	0.425	0.029	0.058
5	<i>Sriv24</i>	0.618	0.142	0.457
6	<i>Sriv15</i>	0.426	0.164	0.326
7	<i>Sriv21</i>	0.716	0.179	0.300
8	<i>Sriv11</i>	0.463	0.351	0.035
9	<i>Sriv45</i>	0.515	0.056	0.158
10	<i>Sriv46</i>	0.806	0.092	0.208
11	<i>Sriv44</i>	0.830	0.116	0.403
12	<i>Sriv20</i>	0.852	0.078	0.079
13	<i>Sriv16</i>	0.655	0.494	0.003
14	<i>Sriv29</i>	0.838	0.070	0.087
15	<i>Sriv8</i>	0.751	0.029	0.010
16	<i>Sriv35</i>	0.699	0.131	0.455
17	<i>Sriv34</i>	0.672	0.509	0.002
18	<i>Sriv42</i>	0.913	0.090	0.292
19	<i>Sriv32</i>	0.730	0.211	0.180
20	<i>Sriv28</i>	0.502	0.081	0.304

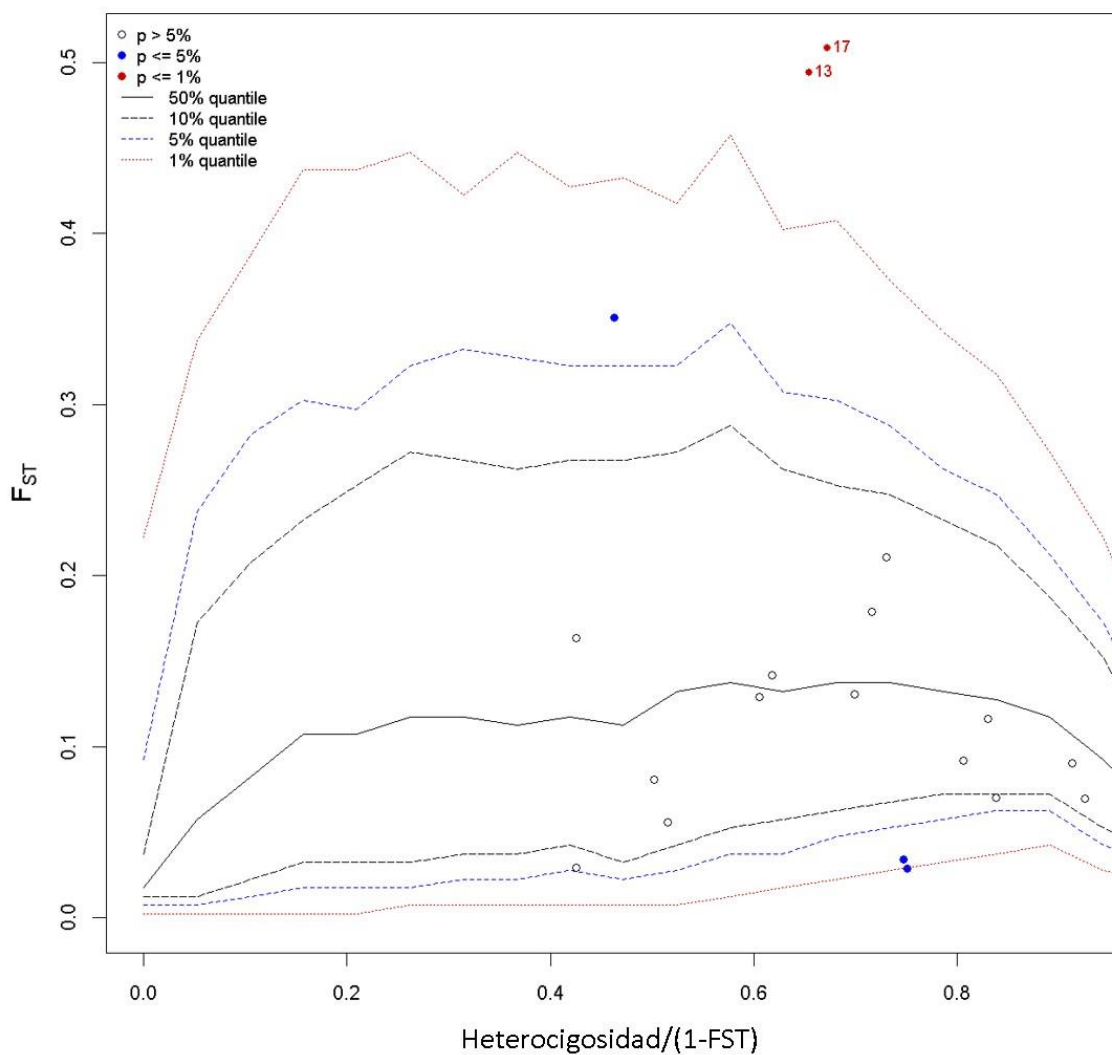


Figura 4. Loci candidatos bajo selección para *Seriola rivoliana* basados en los valores de F_{ST} . En rojo se muestra el número de locus candidatos a una selección positiva.

7.2 Estructura genética

7.2.1 Análisis de agrupación bayesiana

Usando la base de datos con los 20 loci microsatélites y los 146 individuos de las 13 localidades, el estadístico de Evanno (ΔK) determinó dos grupos genéticos como más probables, con un $\Delta K = 831.53$; (Fig.5a). En esta corrida, el primer grupo correspondió a las localidades de Hawai (HAW) y el segundo grupo al Pacífico Oriental Tropical (POT) integrado por las 12 localidades restantes (Fig.6a). Esta primera corrida también sugirió la ocurrencia de hasta siete poblaciones genéticamente homogéneas al presentarse un pequeño pico en $K=7$ refiriéndose a una posible subestructura en los dos grupos mayores (Fig.5a).

Al correr a los individuos de HAW de manera independiente, no se diferenciaron grupos por lo que se consideró como un grupo puro (Anexo B). Sin embargo, al correr a los individuos pertenecientes al POT se obtuvo una $K=2$ (Fig.5b), en este caso el primer grupo genético se identificó por los individuos pertenecientes a Panamá (PA) y el segundo grupo se integró por las diez localidades de México y una panameña (PAN) (Fig.6b). Esta segunda corrida refirió la existencia de hasta cuatro poblaciones (Fig.5b). Se corroboró que los organismos de PA forman un grupo homogéneo (Anexo B).

Al someter a una nueva corrida a los individuos de las localidades mexicanas y PAN, ΔK definió tres grupos (Fig.5c): el grupo formado por los individuos de la F1, el segundo formado por las localidades de la Península y Golfo de California (MAZ-SE-IC-CDC-SJC) y el constituido por las localidades del resto del Pacífico Oriental (SE-IC-SJC-ZIH-ACA-PMA-OAX-PAN) con un grado de mezcla entre los dos últimos grupos (Fig.6c).

Las corridas con los loci estrictamente neutrales (18) y bajo selección (2) tuvieron un resultado similar al análisis con los 20 loci ya que ambos presentaron un $\Delta K=2$ inicial separando a HAW del POT; sin embargo, los loci neutrales también revelaron cinco grupos con mayor mezcla entre las localidades de la Península y Golfo de

California con el resto del Pacífico Oriental. Aunque con los loci bajo selección no existieron diferencias en la asignación de los grupos, éstos se limitaron a la obtención de cuatro (Anexo C).

Ante los resultados anteriores, se decidió emplear los 20 loci para los análisis posteriores los cuales determinaron cinco poblaciones: tres de ellas genéticamente homogéneas: Hawái (HAW), Cultivo (F1) y Península de Azuero (PA), mientras que la población de la Costa de la Península y Golfo de California (CPG) y la población del Pacífico Oriental (PAO), presentan una mezcla genética (Fig.7).

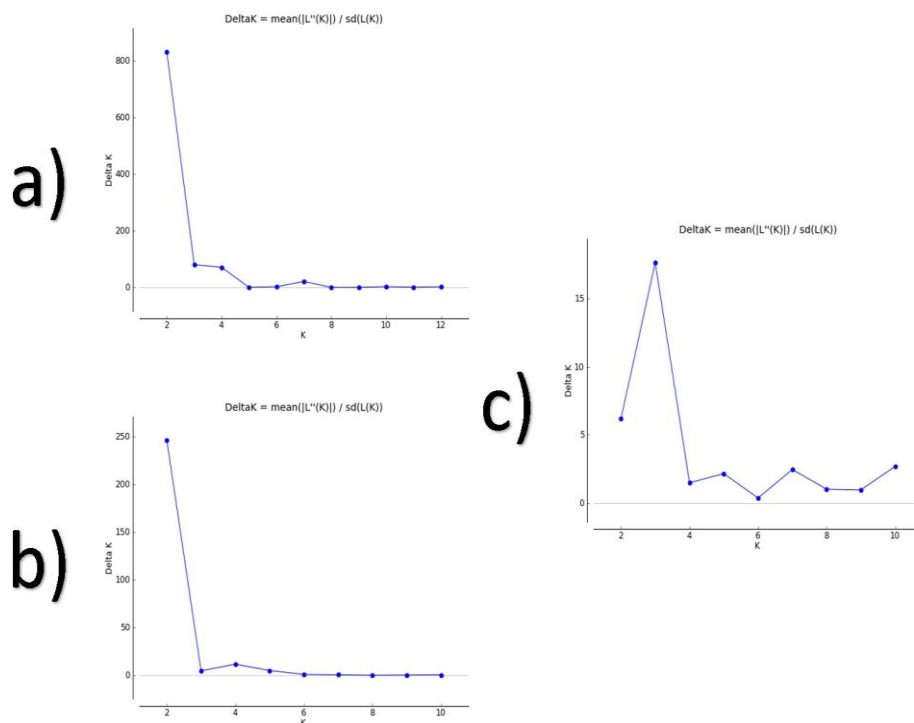


Figura 5. Número más probable de grupos genéticos de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico con 20 loci microsatélites basado en el ΔK (Evanno *et al.*, 2005). Corridos: a) Primera, $\Delta K=2$, b) segunda, $\Delta K=2$ y c) tercera, $\Delta K=3$.

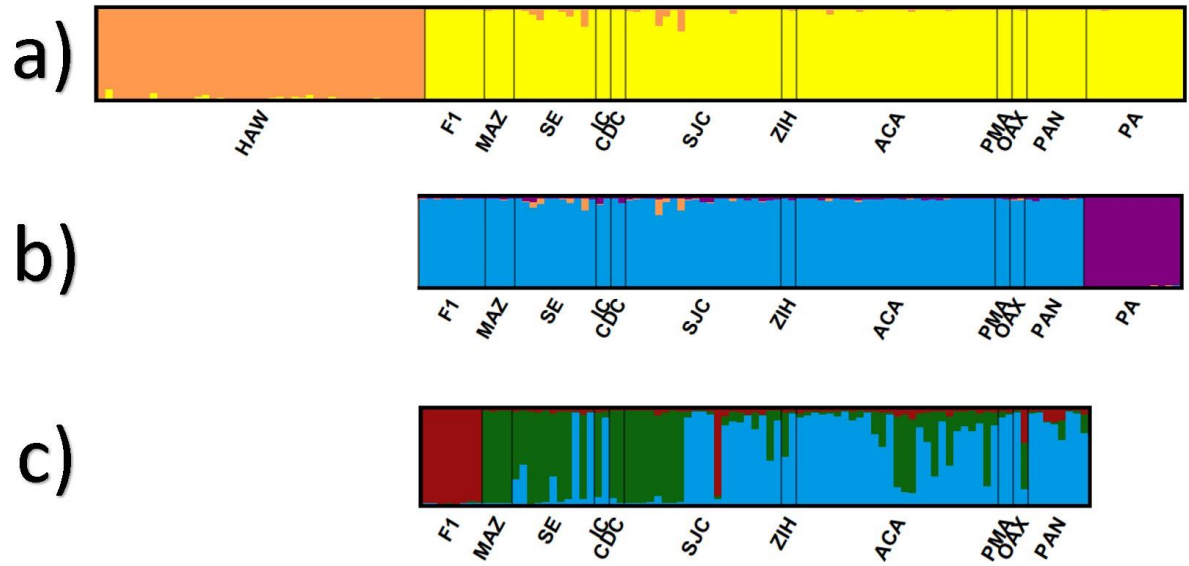


Figura 6. Gráfico de barras del coeficiente de ancestría de los individuos de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico a partir del análisis bayesiano en STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) para: a) valores de $K=2$ en primera corrida, b) valores de $K=2$ para la segunda corrida y c) $K=3$ para la tercera corrida. Cada barra vertical representa a un individuo con la probabilidad de pertenencia a un grupo genético.

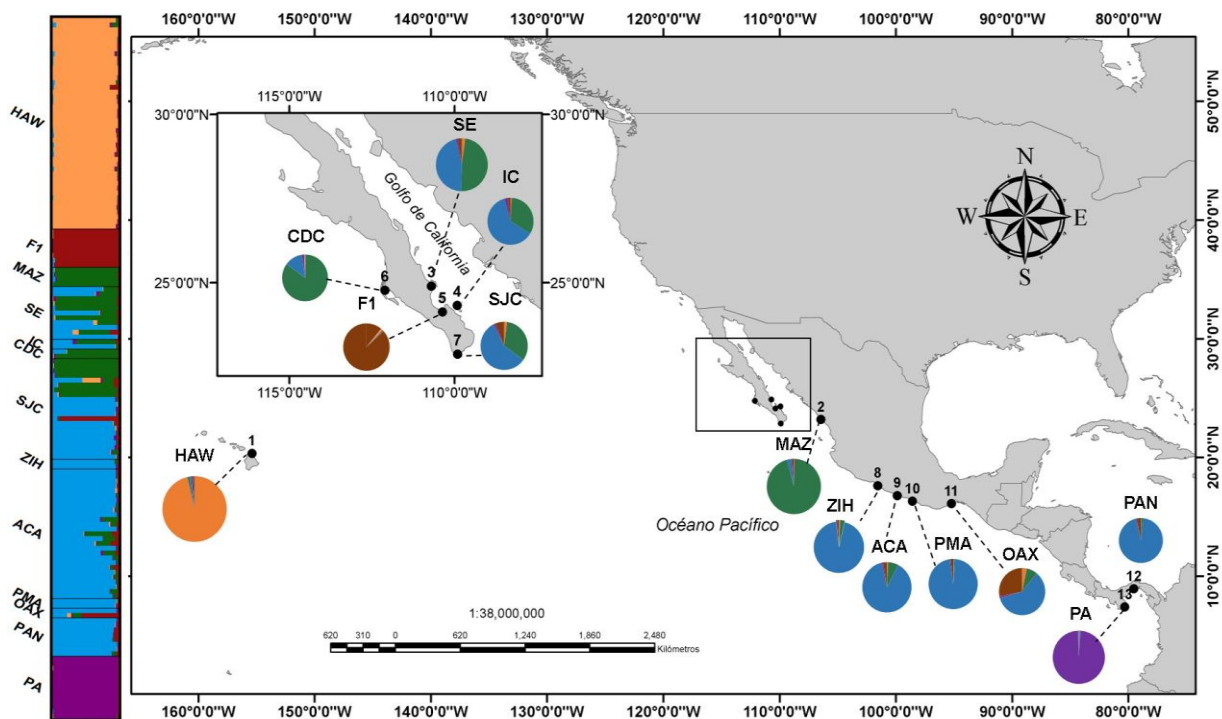


Figura 7. A la izquierda: gráfica de barras del coeficiente de ancestría de los 146 individuos de *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico a partir del análisis bayesiano en STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). Cada barra vertical representa a un individuo con la probabilidad de pertenencia a un grupo genético. Se muestra los cinco grupos genéticos obtenidos en los análisis: naranja= Hawái (HAW), marrón= Cultivo (F1), verde= Costa de la Península y Golfo de California (CPG), azul= Pacífico Oriental (PAO) y púrpura= Península de Azuero (PA). El mapa de la derecha muestra la distribución de los coeficientes de ancestría a lo largo de los sitios de colecta.

7.2.2 Análisis Discriminante de Componentes Principales (ADCP)

El número de grupos más probable con base en el valor mínimo del Criterio de Inferencia Bayesiana (BIC) fue de cuatro (BIC= 258.63) (Fig.8). Se retuvieron 20 componentes principales y dos funciones discriminantes de acuerdo al método de validación cruzada. La primera función discriminante (FD) explica un 65.60% de la variación y separa a los organismos de HAW del resto de las localidades quienes integran el POT, coincidiendo con la primera corrida en STRUCTURE. La segunda FD, explica el 10.66% de la variación y separa de manera notoria a los organismos de PA del resto del POT. Se puede detectar un pequeño grupo integrado por los organismos de CDC, MAZ y algunos de SJC. El resto de los organismos integraron el cuarto grupo incluidos los individuos de la F1 (Fig.9).

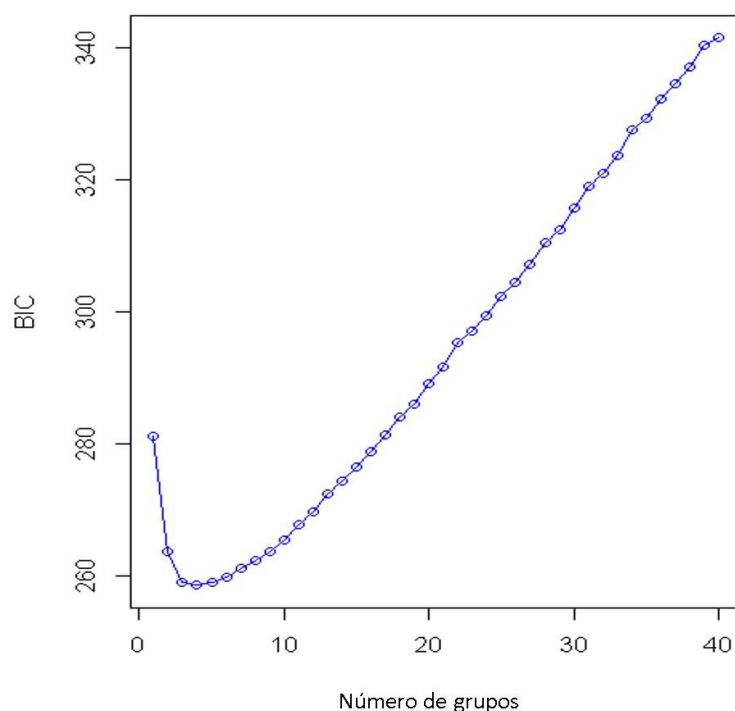


Figura 8. Gráfico obtenido a partir de la función `find.cluster` del paquete `adegenet` v.2.1.1 para R v.3.6.0 (R Core Team, 2020) que presenta los valores del Criterio de Inferencia Bayesiana (BIC). Se muestra una disminución en $K=4$, indicando la presencia de cuatro grupos.

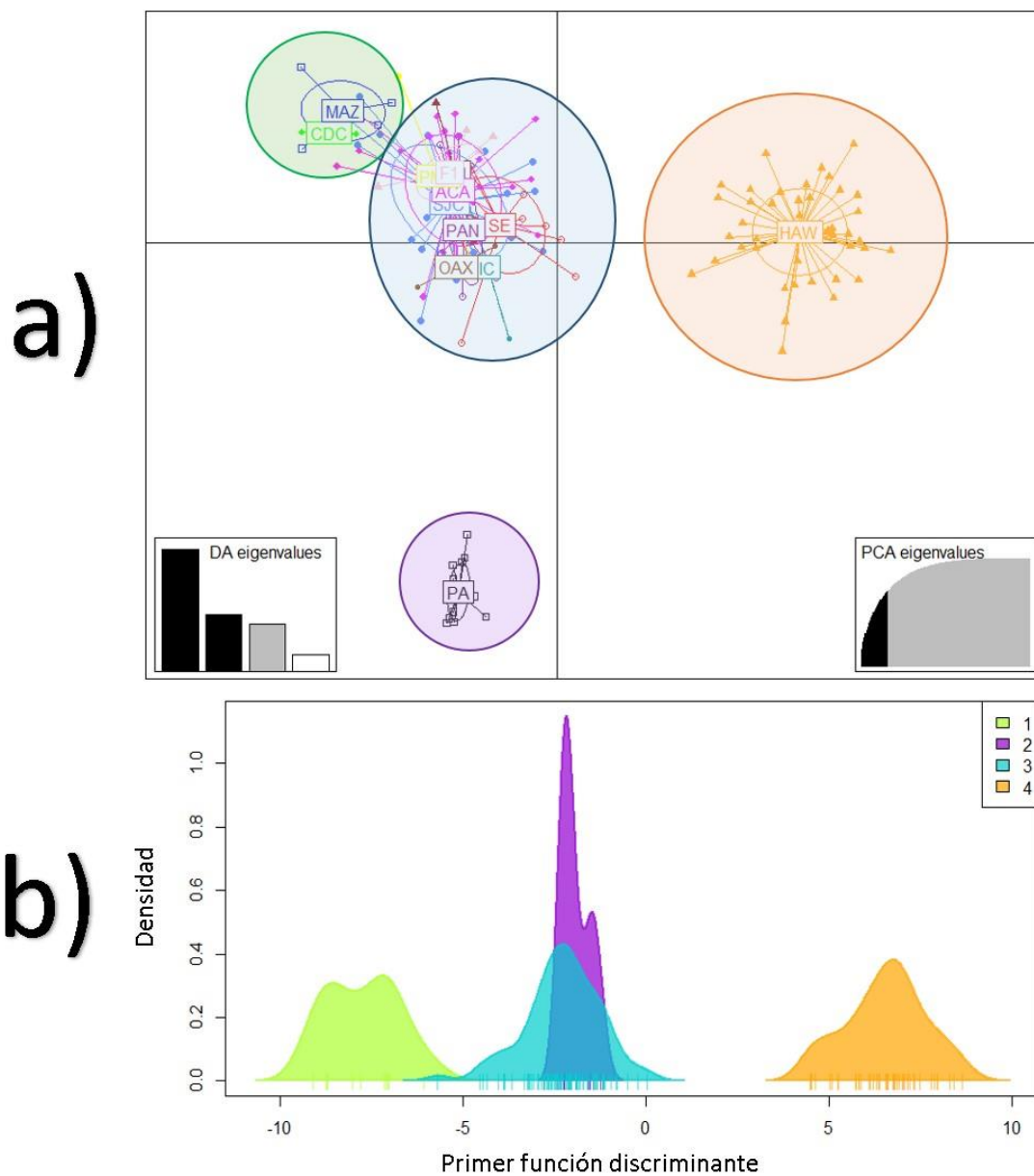


Figura 9. Análisis Discriminante de Componentes Principales con 20 PCs retenidos. Gráficos obtenidos mediante 20 loci microsatélites en *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico. a) Gráfico de dispersión de las 13 localidades con dos funciones discriminantes retenidas. b) Gráfico de la densidad de los individuos a partir de los grupos obtenidos con la primera función discriminante retenida. Los colores representan los grupos genéticos: naranja= Hawái (HAW), verde= Costa de la Península y Golfo de California (CPG), azul= Pacífico Oriental (PAO) y púrpura= Península de Azuero (PA).

7.2.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

Independientemente del escenario probado, la mayor varianza se encontró entre individuos dentro de las localidades, con valores superiores al 78% y estadísticamente significativos ($p < 0.05$). El escenario que mejor explica la varianza entre los grupos o poblaciones correspondió al obtenido por STRUCTURE ($K=5$) con un 15.01%. El siguiente escenario correspondió a dos poblaciones con un 12.97%, el cual separa a los individuos de HAW de las localidades integrantes del POT. El escenario con tres poblaciones, presentó el menor porcentaje de variación entre grupos con un 9.75%. (Tabla VII)

Tabla VII. Porcentaje de variación a diferentes niveles jerárquicos explicados por el AMOVA de tres escenarios puestos a prueba.

Escenario	Fuente de variación	%Variación	Índice de fijación	p -value
Dos poblaciones	Entre grupos	12.97	$F_{CT} = 0.129$	0.00
	Entre localidades dentro de grupos	8.03	$F_{SC} = 0.092$	0.00
	Dentro de localidades	78.99	$F_{ST} = 0.210$	0.00
Tres poblaciones	Entre grupos	9.75	$F_{CT} = 0.097$	0.00
	Entre localidades dentro de grupos	8.5	$F_{SC} = 0.094$	0.00
	Dentro de localidades	81.73	$F_{ST} = 0.182$	0.00
STRUCTURE $K=5$	Entre grupos	15.01	$F_{CT} = 0.150$	0.00
	Entre localidades dentro de grupos	3.34	$F_{SC} = 0.039$	0.00
	Dentro de localidades	81.64	$F_{ST} = 0.183$	0.00

7.2.4 Índice de fijación

Los valores de F_{ST} mostraron niveles significativos de diferenciación genética entre las localidades posterior a la corrección de Bonferroni ($p < 0.0006$). Estos valores significativos se encontraron entre los 0.09-0.38. Los valores más altos se observaron entre F1-PA (0.38, $p < 0.0006$), HAW-PA (0.31, $p < 0.0006$) y MAZ-PA (0.31, $p < 0.0006$). La localidad de HAW mostró diferencias significativas con la mayoría de las localidades (F1, MAZ, SE, SJC, ACA, PAN y PA), caso similar para PA (F1, MAZ, SE, SJC, ACA y PAN) y F1(SE, SJC, ACA y PAN). Las comparaciones entre MAZ-SE-IC-CDC no fueron significativas. Por último, SJC-ZIH-ACA-PMA-OAX-PAN no mostraron valores significativos entre ellas, coincidiendo con los grupos genéticos que se obtuvieron en STRUCTURE.

Tabla VIII. Valores de F_{ST} pareados entre localidades para *Seriola rivoliana* con 20 loci microsatélites en el océano Pacífico. Debajo de la diagonal se muestran los valores de F_{ST} , mientras que sobre la diagonal se presentan los valores de p . Los valores significativos se muestran en negritas después de la corrección de Bonferroni ($p < 0.0006$). Los colores representan los grupos genéticos generados por STRUCTURE: naranja = Hawái (HAW), marrón = Cultivo (F1), verde = Costa de la Península y Golfo de California (CPG), azul = Pacífico Oriental (PAO) y púrpura = Península de Azuero (PA).

	HAW	F1	MAZ	SE	IC	CDC	SJC	ZIH	ACA	PMA	OAX	PAN	PA
HAW		0.000	0.000	0.000	0.001	0.001	0.000	0.001	0.000	0.001	0.001	0.000	0.000
F1	0.28		0.001	0.000	0.020	0.022	0.000	0.022	0.000	0.022	0.023	0.000	0.000
MAZ	0.21	0.21		0.002	0.072	0.596	0.001	0.061	0.000	0.134	0.131	0.002	0.000
SE	0.17	0.14	0.11		0.277	0.041	0.001	0.209	0.001	0.367	0.225	0.002	0.000
IC	0.21	0.19	0.11	0.03		0.337	0.127	0.332	0.084	0.999	0.334	0.068	0.010
CDC	0.26	0.21	0.00	0.12	0.15		0.039	0.668	0.012	0.669	0.330	0.021	0.009
SJC	0.20	0.12	0.10	0.05	0.04	0.09		0.197	0.085	0.846	0.646	0.024	0.000
ZIH	0.20	0.08	0.10	0.03	0.05	0.04	0.03		0.217	0.667	0.334	0.041	0.010
ACA	0.22	0.09	0.12	0.05	0.05	0.10	0.01	0.02		0.722	0.542	0.011	0.000
PMA	0.22	0.08	0.06	0.01	0.00	0.10	0.00	0.03	0.00		0.999	0.159	0.009
OAX	0.22	0.11	0.08	0.03	0.05	0.14	0.00	0.01	0.00	0.00		0.227	0.008
PAN	0.27	0.20	0.19	0.09	0.11	0.19	0.03	0.12	0.03	0.08	0.02		0.000
PA	0.31	0.38	0.31	0.25	0.32	0.39	0.16	0.26	0.20	0.27	0.20	0.24	

7.3 Análisis de diversidad genética

Se analizó la diversidad genética de las cinco poblaciones corroboradas por los análisis anteriores (STRUCTURE, AMOVA y F_{ST}). El tamaño de muestra fue variable entre las poblaciones. Los valores promedios de los estimadores de diversidad genética se encuentran en la Tabla IX. El número de alelos (N_a) se encontró entre 1.85 y 7.4. En cuanto a los alelos efectivos (N_e) los valores estuvieron entre 1.57 y 4.05. La heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) fluctuó entre 0.512-0.655 y 0.307-0.683 respectivamente. La población de HAW presentó los valores más altos de los estimadores de diversidad genética mientras que PA los valores menores en la mayoría de los casos. La H_o fue menor que H_e en HAW, CPG y PAO señalando un exceso de homocigotos a diferencia de F1 y PA que indican un déficit.

Las comparaciones por pares de H_o no presentaron diferencias significativas entre las poblaciones después de la corrección de Bonferroni (Tabla X), sin embargo, después de dicha corrección en las comparaciones de H_e se mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) (Tabla XI).

Tabla IX. Valores promedio de los estimadores de diversidad genética en las poblaciones de *Seriola rivoliana* del océano Pacífico. Se presenta el tamaño de muestra (N), número de alelos (N_a), número de alelos efectivos (N_e), heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e). El análisis se realizó en el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). Hawái (HAW), Cultivo (F1), Costa de la Península y Golfo de California (CPG), Pacífico Oriental (PAO) y Península de Azuero (PA).

Población	N	N_a	N_e	H_o	H_e
HAW	44	7.4	4.05	0.655	0.683
F1	8	2.5	2.16	0.506	0.418
CPG	19	5.5	3.58	0.648	0.659
PAO	62	6.1	2.99	0.538	0.543
PA	13	1.85	1.57	0.512	0.307

Tabla X. Valores de p de heterocigosidad observada (H_o) pareados entre poblaciones para *Seriola rivoliana* con 20 loci microsatélites en el océano Pacífico. Se presentan los valores después de la corrección de Bonferroni ($p < 0.05$).

	HAW	F1	CPG	PAO	PA
HAW					
F1	0.775				
CPG	0.756	0.673			
PAO	0.165	0.775	0.218		
PA	0.860	0.545	0.860	0.903	

Tabla XI. Valores de p de heterocigosidad esperada (H_e) pareados entre poblaciones para *S. rivoliana* con 20 loci microsatélites en el océano Pacífico. Los valores significativos se muestran en sombreadas en gris después de la corrección de Bonferroni ($p < 0.05$).

	HAW	F1	CPG	PAO	PA
HAW					
F1	0.014				
CPG	0.636	0.024			
PAO	0.106	0.264	0.252		
PA	0.000	0.264	0.000	0.024	

8. DISCUSIÓN

8.1 Calidad y efectividad de los loci

Este es el primer trabajo que tuvo como objetivo brindar información acerca de la estructura genética poblacional en *S. rivoliana* mediante el uso de marcadores tipo microsatélites obtenidos a través de la secuenciación masiva. Aunque existe un precedente sobre la especie en el mar Mediterráneo (Šegvić-Bubić *et al.*, 2016), donde se logro amplificar el ADN de *S. rivoliana* con un locus microsatélite no especie-específico. Sin embargo, con la presente investigación se diseñaron loci específicos para la especie, lo que permite que se amplifique el mismo fragmento en diferentes individuos, puesto que la región donde se une el iniciador debe ser una región muy conservada entre los organismos, siendo invariable al interior de la especie (Selkoe y Tonnen, 2006) lo que permite caracterizar la composición genética de las poblaciones tanto naturales como de cultivo. Estos loci podrán ser usados en otras aplicaciones tales como pruebas de parentesco y trazabilidad alimentaria.

Debido a las características que presentan los microsatélites (alta tasa de mutación y polimorfismo) son ideales para evaluar la variación genética a una escala poblacional, sin embargo, se debe considerar las diferentes fuentes de error que puedan interferir en la confiabilidad de la información generada a partir de este tipo de marcadores. Estos errores se pueden presentar desde el muestreo en campo, el trabajo en el laboratorio (contaminación, amplificación pobre), la genotipificación (aceptación de artefactos como alelos verdaderos, presencia de stutters) hasta en las pruebas de la calibración de loci (Selkoe y Tonnen, 2006).

Dado que en este estudio no se detectó errores por la pérdida de alelos grandes o por tartamudez alélica durante la amplificación y la genotipificación, el diseño y las amplificaciones de los loci pueden calificarse como adecuados. Cabe recalcar que la presencia de alelos nulos es de los problemas frecuentes ante el uso de microsatélites, ya que por alguna mutación en el sitio donde hibrida el iniciador evita

la amplificación del alelo que es afectado (Carlsson, 2008) y los análisis revelaron que la frecuencia obtenida de alelos nulos se debe a un exceso de homocigotos.

La manifestación de alelos nulos tiene un efecto sobre el EHW, ya que, al considerar un falso homocigoto, se tiende a subestimar la heterocigosidad conduciendo a un desvío del EHW (Chapuis y Estoup, 2007; Carlsson, 2008). Las mayores frecuencias de alelos nulos se presentaron en los locus *Sriv46* y *Sriv32*, aunque también otros loci mostraron frecuencias altas y moderadas en las localidades de HAW (*Sriv4* y *Sriv32*), SJC (*Sriv46*, *Sriv34* y *Sriv32*), SE (*Sriv16*), ACA (*Sriv46* y *Sriv32*) (ver Anexo A), siendo correspondientes con desviaciones significativas del EHW. La mayoría de los desvíos presentados demuestran un déficit de heterocigotos y se ha reportado en otras especies de peces marinos al utilizar este tipo de marcadores (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006; González y Zardoya, 2007; Sun *et al.*, 2019). Este déficit además de la presencia de alelos nulos, se ha atribuido a la presencia de la selección, a la mezcla de poblaciones o a apareamientos no aleatorios (Rousset y Raymond, 1995). Sin embargo, en este estudio las señales de alelos nulos no fueron suficientemente altas como para afectar el uso de los loci para determinar la diversidad genética dentro y entre poblaciones.

Respecto al desequilibrio de ligamiento, Selkoe y Tonnen (2006) indican que su presencia puede provocar pseudo replicación en lo análisis genéticos, sugiriendo descartar uno de los loci que se encuentre en desequilibrio significativo. A pesar de que en el estudio se encontraron cinco pares de loci ligados, no codificaron para el mismo carácter como se esperaría que sucediera con loci que se segregan juntos, por lo que se consideró que todos los loci se segregan de manera independiente.

Por último, dos de los 20 loci fueron candidatos a encontrarse bajo selección. Sin embargo, esta acción no ocurre directamente sobre los loci, es probable que se deba a una acción indirecta ya que los loci pueden encontrarse en regiones cercanas a genes donde la selección actúe (Slatkin, 1995; Nielsen *et al.*, 2006). Los loci bajo selección pueden influir en las estimaciones de parámetros poblaciones

como en la asignación de grupos y ha sido reportado en peces (Gaggiotti *et al.*, 2009; Limborg *et al.*, 2012) por lo que los análisis bayesianos se realizaron utilizándolos y excluyéndolos. Este aspecto se discute más adelante.

8.2 Estructura genética

El segundo objetivo particular de esta investigación se logró mediante la aplicación de los cuatro análisis. A pesar de ser diferentes en cuanto al método y supuestos, los resultados fueron concordantes, confirmándose una diferenciación genética poblacional de la especie en el océano Pacífico y corrobora investigaciones realizadas con SNPs encontrados por Mendoza-Portillo *et al.* (*datos sin publicar*). El resultado obtenido por STRUCTURE señala que existen cuatro poblaciones naturales: la primera integrada por individuos de Hawái, la segunda corresponde a organismos pertenecientes a la Península de Azuero, siendo ambos grupos homogéneos. Por otro lado, las dos poblaciones faltantes, una integrada por las localidades presentes en la Costa de la Península y Golfo de California, y la segunda población formada por las localidades restantes del Pacífico Oriental, mostraron una zona de introgresión (mezcla genética). La F1 resultó como un grupo independiente y se consideró como la población de cultivo.

Esta estructura se encuentra respaldada por el AMOVA. De los escenarios evaluados, el generado por STRUCTURE explicó mejor la repartición de la varianza con valores significativos dentro de las localidades (F_{ST}) como entre los grupos (F_{CT}). De igual manera, los grupos genéticos obtenidos se encontraron soportados por los valores de F_{ST} cuyos valores son superiores a los reportados por Ward *et al.* (1994) en otras especies de peces marinos ($F_{ST} = 0.062$). Palumbi (2003) menciona como regla el valor de $F_{ST} = 0.05$ para una diferenciación poblacional en especies pelágicas, apoyando las comparaciones significativas observadas entre las localidades estudiadas ($F_{ST} = 0.09-0.38$).

El ADCP determinó cuatro de los cinco grupos, siendo el grupo de los organismos de la F1 el que no se diferenció de los individuos del Pacífico Oriental. Si bien el ADCP es una buena alternativa para la identificación de grupos debido a que no requiere que exista un equilibrio de Hardy-Weinberg (Jombart *et al.*, 2010), Dufresne *et al.* (2014) sostienen que en este análisis multivariado existe una pérdida de información al reducir la información genética a distancias interindividuales y en comparación, los métodos que emplean información genotípica son más potentes. Por otro lado, los resultados corresponden a las dos primeras funciones discriminantes graficadas que explican el mayor porcentaje de la varianza y no se descarta que la separación de F1 pueda estar determinada por otra función discriminante. Pero tampoco son resultados extraordinarios dado que esos individuos F1 son los hijos de los reproductores de San José del Cabo y San Evaristo. STRUCTURE al ser un análisis altamente sensible puede determinar grupos genéticos a nivel de familia, lo cual corrobora los resultados de ADCP. Y resalta la necesidad de relizar estudio de parentesco para determinar si los grupos genéticos detectados por este método son poblaciones naturales o poblaciones constituidas por familias.

El identificar marcadores bajo selección es esencial para separar sus efectos de otros procesos evolutivos o demográficos (Foll y Gaggioti, 2006). Como se mencionó anteriormente, los loci bajo selección pueden ocasionar cambios en la asignación de los grupos, debido a que actúa sólo en alguno de ellos. A pesar de que los locus *Sriv16* y *Sriv34* se encontraron cercanos a genes que están bajo una selección direccional o positiva, la cual promueve la propagación del alelo que confiere un beneficio de aptitud física al favorecer a los individuos que lo porten (Wagner, 2007), estos no mostraron asignaciones de grupos diferentes a los obtenidos con los loci neutrales y no discrimina la mayoría de las localidades presentes en la Costa de la Península y Golfo de California de las presentes del Pacífico Oriental.

La estructura genética obtenida en *S. rivoliana* es contraria a los reportados en la mayoría de las especies de peces pelágicas que dadas su alta capacidad de dispersión y alto flujo de genes, conducen a una población panmítica como en la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) o el tiburón azul *Prionace glauca* (Valenzuela- Quiñonez *et al.*, 2016; Bailleul *et al.*, 2018). No obstante, también se ha reportado diferencias genéticas en especies pelágicas del océano Pacífico, tanto a lo largo de Ecuador con el tiburón sedoso (*Carcharhinus falciformis*) o el tiburón zorro (*Alopias pelagicus*) (Galván-Tirado *et al.*, 2013; Cardeñosa *et al.*, 2014); como latitudinalmente, observado en el atún aleta amarilla (*Thunus albacares*), el cazón pardo (*Mustelus henlei*) y el volador de dos alas (*Exocoetus volitans*) (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006; Chabot *et al.*, 2015; Lewallen *et al.*, 2016). O especies pelagicas que muestran ambas estructuras de diferenciación geográfica como el jurel de castilla (*S. lalandi*) (Premachandra *et al.*, 2017).

Los gradientes de temperatura, corrientes oceánicas, discontinuidad del hábitat, sistemas de afloramiento, etc. son algunos factores oceanográficos que afectan la distribución de las especies marinas puesto que ocasionan el aislamiento o la conexión de sus poblaciones; pero también las características propias de la especie como lo es su capacidad de dispersión, preferencia por sitios de apareamiento o desove influyen en la estructura genética de las poblaciones naturales (Gaggiotti *et al.*, 2009; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). Para el caso de *S. rivoliana*, al vivir en aguas cálidas se ha documentado que la temperatura tiene una gran influencia en su distribución y supervivencia, sobre todo en la etapa larvaria (Roo *et al.*, 2014). Esta especie está presente de manera natural en zonas de 18-24°C y en condiciones de cultivo puede soportar hasta 29 °C (Espinoza *et al.*, 2009; Grossi-Dopico, 2010; Roo *et al.*, 2014). Parte de la estructura determinada podría ser explicada por la Corriente de California que al presentar aguas frías actúa como una barrera térmica entre los organismos de HAW y el POT (Kessler, 2006) y su influencia sea mayor que la dada por la Barrera del Pacífico Oriental. Por otro lado, las poblaciones identificadas como la Costa de la Península y Golfo de California, y

la del Pacífico Oriental, corresponden a las provincias biogeográficas de Cortez y Panameña propuesta para peces pelágicos por Robertson y Cramer (2009). A pesar de que las aguas cálidas superficiales del Cabo son consideradas como una barrera para muchas especies (*Paralabrax maculatofasciatus* o *Anisotremus davidsonii* por ejemplo), se ha demostrado que en la vieja californiana (*Semicossyphus pulcher*), la raya común (*Urobatis halleri*) y el cazón pardo (*Mustelus henlei*) no llegan a tener tal efecto debido a la capacidad de nadar por debajo de estas aguas y después se dispersen por la Península de California demostrando un flujo de genes entre el Pacífico y el Golfo de California (Bernardi *et al.*, 2003; Plank *et al.*, 2010; Chabot *et al.*, 2015). El flujo entre ambas zonas también se presenta en el jurel (*S. rivoliana*) señalada por la zona de introgresión (mezcla) la cual se ubica en el límite norte de la provincia Panameña. Esta zona de mezcla podría darse por la selección de sitios de desove, como se resporó en el atún aleta amarilla (*T. albacares*) (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006), debido a las altas temperaturas de esta zona ya que se ha reportado que en cultivo el jurel desova a los 26°C (Roo *et al.*, 2014).

8.3 Diversidad genética

Los números de alelos promedios obtenidos en las poblaciones de *S. rivoliana* (Na:1.85-7.4) presentaron valores bajos en comparación con otras especies de peces pelágicas como la sardina europea (*S. pilchardus*) con Na: 27.4-31o el atún ojo grande (*T. obesus*) con un Na: 8.7-20.4 (González y Zardoya, 2007). Sin embargo, los valores se encontraron dentro de los rangos reportados para la especie haciendo uso de microsatélites diseñados para *S. dumerili* con valores promedio de 2-5.7 (Nugroho y Taniguchi, 1999; Renshaw *et al.*, 2012; Šegvić-Bubić *et al.*, 2016). Lo mismo sucedió para el número de alelos efectivos. Los valores observados de H_o (0.512-0.655) y H_e (0.307-0.683) coinciden con los rangos para *S. rivoliana* reportados en los trabajos de Nugroho y Taniguchi (1999) y Renshaw *et al.* (2012), además de encontrarse entre los valores promedios de heterocigosidad

informados para la familia (Martínez *et al.*, 2018). Tres de las cinco poblaciones mostraron valores de H_o inferiores a lo esperado (HAW, CPG y PAO), por lo que indica una pérdida de heterocigotos, lo cual es común en peces marinos (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006; González y Zardoya, 2007). Esta disminución puede deberse a la presencia de alelos nulos en las poblaciones; al apareamiento de individuos que estén emparentados ocasionando el aumento de la consanguinidad; o al “efecto Wahlund” en donde una población presenta una subestructuración con exceso de homocigotos (Rousset y Raymond, 1995; Aranguren-Méndez *et al.*, 2005). Los alelos nulos y en mayor medida el efecto Wahlund (gran zona de mezcla a lo largo del Pacífico oriental, Figura 7) pueden ser los factores que estén ocasionando el déficit de heterocigotos. Las poblaciones de F1 y PA presentaron un exceso de heterocigotos, este fenómeno no es tan común, sin embargo, puede ser explicado por una selección sobredominante (a favor de los heterocigotos) (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005) o bien por un cuello de botella reciente en la población de F1 y PA (Luikart y Cornuet, 1997) como ocurrió en la lobina negra (Wang *et al.*, 2019), lo cual también podría explicar los valores bajos en los estimadores de diversidad genética. F1 siendo los hijos de los reproductores de San José del Cabo y San Evaristo representan efectivamente un cuello de botella. Sin embargo, la población de PA es más difícil de explicar, sólo se resalta que esas muestras fueron las donadas por el Dr. Carlos Vergara-Chen de la Universidad Tecnológica de Panamá, y de acuerdo a su información, fueron colectadas a finales de septiembre del 2018 cuando inicia la época de lluvias, por lo que hay incertidumbre en la demografía de la población.

9. CONCLUSIONES

Los loci diseñados para el jurel (*S. rivoliana*) presentan alta calidad que permite evaluar su variabilidad genética. El análisis con 20 loci microsatélites determinó la presencia de cuatro poblaciones para el jurel (*Seriola rivoliana*) en el Océano Pacífico. Estas poblaciones corresponden a dos poblaciones genéticamente homogéneas Hawái y Península de Azuero. La población de Costa de la Península y Golfo de California con la población del Pacífico Oriental, presentan una mezcla genética. La F1 resultó como un grupo independiente.

Los niveles de diversidad como número de alelos y alelos efectivos fueron inferiores a los reportados en otras especies de peces pelágicas pero al igual que la heterocigosidad observada y esperada, se ubican dentro de los valores reportados en otras especies de *Seriola*.

La información obtenida a partir de este tipo de marcadores no sólo contribuye al conocimiento y conservación de la diversidad genética en las poblaciones determinadas, sino que también a la identificación de stocks para la gestión pesquera de la especie, a la creación de programas de manejo y mejoramiento en cautiverio. Su empleo además permite realizar estudios futuros de trazabilidad y origen e incluso detectar genealogías.

10. LITERATURA CITADA

Alcala, N., J. Goudet, S. Vuilleumier. 2014. On the transition of genetic differentiation from isolation to panmixia: What we can learn from G_{ST} and D . *Theor. Popul. Biol.* 93:75-84.

Allen, G. R., D. R. Robertson. 1994. *Fishes of the Tropical Eastern Pacific*. University of Hawaii Press. Honolulu, Hawaii. 332p.

Alvarado-Bremer, J.R., B. Stequert, N.W. Robertson, B. Ely. 1998. Genetic evidence for inter- oceanic subdivision of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) populations. *Mar. Biol.* 132:547- 557.

Aquamaps. 2016. Computer generated distribution maps for *Seriola rivoliana* (Longfin yellowtail), with modelled year 2100 native range map based on IPCC A2 emissions scenario. Disponible en: http://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular# . Fecha de acceso: 01 de abril 2018.

Aranguren-Méndez, J. A., R. Román-Bravo, W. Isea, Y. Villasmil, J. Jordana. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 2005. 13(1): 1-6.

Avilés, A., F. Castelló Orvay. 2004. Manual para el cultivo de *Seriola lalandi* (Pices: Carangidae) en Baja California Sur, México. Instituto Nacional de la Pesca. Dirección General de Acuacultura. México. 47p.

Babbucci, M., L. Zane, F. Andaloro, T. Patarnello. 2006. Isolation and characterization of microsatellite loci from yellowtail *Seriola dumerilii* (Perciformes: Carangidae). *Mol. Ecol. Notes.* 6:1126-1129.

- Bailleul, D., A. Mackenzie, O. Sacchi, F. Poisson, N. Bierne, S. Arnaud-Haond. 2018. Large-scale genetic panmixia in the blue shark (*Prionace glauca*): A single worldwide population, or a genetic lag-time effect of the "grey zone" of differentiation? *Evol. Appl.* 11(5):614–630.
- Balloux, F., N. Lugon-Moulin. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 11:155-165.
- Bernardi, G., L. Findley, A. Rocha-Olivares. 2003. Vicariance and dispersal across Baja California in disjunct marine fish populations. *Evolution.* 57:1599–1609.
- Caballero, A. 2014. Genética de la conservación: la aplicación de los conceptos de la evolución a la conservación de la diversidad biológica. *Mèt. Sci. Studies J.* 4:73-77.
- Cabrero-Hurtado, J., J. P. M. Camacho. 2002. Fundamentos de genética de poblaciones. En: Soler-Cruz, M (ed.). *Evolución, la base de la biología*. Universidad de Granada. Granada, España. pp83-126.
- Cardeñosa, D., J. Hyde, S. Caballero. 2014. Genetic Diversity and Population Structure of the Pelagic Thresher Shark (*Alopias pelagicus*) in the Pacific Ocean: Evidence for Two Evolutionarily Significant Units. *PLoS One.* 9(10):e110193. doi:10.1371/journal.pone.0110193.
- Carlsson, J. 2008. Effects of Microsatellite Null Alleles on Assignment Testing. *J. Hered.* 6:616-623.
- Carvalho, G. R., L. Hauser. 1995. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. En: Carvalho, G.R., T. J. Pitcher (eds.) *Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman & Hall. Londres. pp55-79.
- Castriota, L., S., Greco, G. Marino, F. Andaloro. 2002. First record of *Seriola rivoliana* Cuvier, 1833 in the Mediterranean. *J. Fish. Biol.* 60(2): 486-488.

- Cervigón, F. 1993. Los peces marinos de Venezuela. Volumen 2. Fundación Científica Los Roques. Caracas, Venezuela. 497p.
- Chabot, C. L., M. Espinoza, I. Mascareñas-Osorio, A. Rocha-Olivares. 2015. The effect of biogeographic and phylogeographic barriers on gene flow in the brown smoothhound shark, *Mustelus henlei*, in the northeastern Pacific. *Ecol. Evol.* 5(8):1585-1600.
- Chapuis, M. P., A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 3:621-631.
- Çiftci, Y., I. Okumuş. 2002. Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I-Basic Principles of Fish Population Genetics. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 2:145-155.
- Cornejo-Romero, A., A. Serrato-Díaz, B. Rendón-Aguilar, M.G. Rocha-Munive. 2014. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. SEMARNAT-INECC-UAM I. Primera edición. México, D.F. 254p.
- Dempster, A. P., N. M. Laird, D. B. Rubin. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J. R. Stat. Soc. Series B Stat. Methodol.* 39(1):1-38.
- Díaz-Jaimes, P., M. Uribe-Alcocer. 2006. Spatial differentiation in the Eastern Pacific yellowfin tuna revealed by microsatellite variation. *Fish. Sci.* 72:590-596.
- Dufresne, N., M. Stift, R. Vergilino, B. K. Mable. 2013. Recent progress and challenges in population genetics of polyploid organisms: an overview of current state-of-the-art molecular and statistical tools. *Mol. Ecol.* 23(1):40-69.
- Earl, D. A., B. M. Vonholdt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4:359-361.
- Eldon, B., F. Riquet, J. Yearsley, D. Jollivet, T. Broquet. 2016. Current hypotheses to explain genetic chaos under the sea. *Curr. Zool.* 62(6):551-566.

- Eschmeyer, W. N., R. Fricke, R. van der Laan (eds). 2017. CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Versión electrónica. Fecha de acceso: 25 febrero 2018.
- Espinoza, N., E. Escala, E. Blacio. 2009. Estudio de la factibilidad técnica del cultivo del huayaibe (*Seriola rivoliana*) en piscinas con y sin geomembranas. Escuela Superior Politécnica del Litoral de Guayaquil. pp3-5.
- Evanno, G., S. Regnaut, J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 8:2611-2620.
- Excoffier, L., H. E. L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Res.* 3:564-567.
- Excoffier, L., P.E Smouse, J.M. Quattro. 1992. Analysis molecular variance inferred from metrics distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics.* 131:479-491.
- Excoffier, L., T. Hofer, M. Foll. 2009. Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity.* 103:285–298.
- Faircloth, B. 2008. Msatcommander: detection of microsatellite repeats arrays and automated, locus-specific primer design. *Mol. Ecol. Resour.* 8(1):92-94.
- Falush, D., M. Stephens, J. K. Pritchard. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol. Ecol. Notes.* 4:574-578.
- FAO. 2009. Desarrollo de la acuicultura 3. Gestión de recursos genéticos. FAO Orientaciones Técnicas para la pesca responsable. Roma, Italia. 148p.

FAO. 2015. La Biodiversidad genética en la acuicultura. <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/010/i0112s/i0112s20.pdf> Versión electrónica. Fecha de acceso: 10 abril 2018.

Fernández, G., D. Cichero, A. Patel, V. Martínez. 2015. Genetic structure of Chilean populations of *Seriola lalandi* for the diversification of the national aquaculture in the north of Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 43(2):74-379.

Foll, M., O. E. Gaggiotti. 2006. Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of populations. *Genetics* 174:875–891.

Frankham, R., J. D. Ballou, D. V. Briscoe. 2010. *Introduction to Conservation Genetic*. Cambridge University Press. 2a edición. Reino Unido. 644p.

Futuyma, D. J. 2009. *Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Estados Unidos de América. 633p.

Gaggiotti, O. E, D. Bekkevold, H. B. Jorgensen, M. Foll, G. R. Carvalho, C. Andre, D. E. Ruzzante. 2009. Disentangling the effects of evolutionary, demographic, and environmental factors influencing genetic structure of natural populations: Atlantic herring as a case study. *Evolution*. 63(11):2939-2951.

Galván-Tirado, C., P. Díaz-Jaimes, F.J. García-De León, F. Galván-Magaña, M. Uribe-Alcocer. 2013. Historical demography and genetic differentiation inferred from the mitochondrial DNA of the silky shark (*Carcharhinus falciformis*) in the Pacific Ocean. *Fish. Res.* 147:36-46.

García-De León, F. J.; C. Galván-Tirado, L. Sánchez-Velasco, C. A. Silva-Segundo, R. Hernández-Guzmán, I. Barriga-Sosa, P. Díaz-Jaimes, M. Canino, P. Cruz-Hernández. 2018. Role of oceanography in shaping the genetic structure in the North Pacific hake *Meluccius productus*. *PLoS ONE*. 13 (3):e0194646.

Getino-Mamet, L.N. 2016. Estructura poblacional en la medusa bola de cañón (*Stomolophus meleagris*) en el noreste de México mediante análisis de

microsatélites. Tesis (Maestría en Ciencias). La Paz, México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. 75p.

González, E., R. Zardoya. 2007. Relative role of life-history traits and historical factors in shaping genetic population structure of sardines (*Sardina pilchardus*). BMC Evol. Biol. 7:197.

Grossi-Dopico, E. Primeras experiencias del cultivo del medregal negro (*Seriola rivoliana*, Valenciennes 1833) en Canarias. Tesis (Maestría en cultivos Marinos). Las Palmas, España. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 118p.

Hamilton, M. B. 2009. Population Genetics. Wiley and Sons. 424p.

Hargrove, J. S., D. J. Murie, D. C. Parkyn, E. V. Saarinen, A. D. Austin. 2018. Mixing rates in weakly differentiated stock of greater amberjack (*Seriola dumerili*) in the Gulf of Mexico. Genetica. 146:393-402.

Hartl, D. L., A. G. Clark. 2007. Principles of population Genetics. Sinauer. 4a edición. Sunderland, Estado Unidos de América. 635p.

Honebrink, R. R. 2000. A review of the biology of the family Carangidae, with emphasis on species found in Hawaiian waters. Division of Aquatic Resources. Department of Land and Natural Resources. Honolulu, Hawaii. 37p.

Jakobsson, M., N. A. Rosenberg. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. Bioinformatics. 23 (14):1801-1806.

Jiménez, P., C. Collada. 2000. Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. Investigación Agraria Sistemas y Recursos Forestales. 9(2):237-248.

Jombart, T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. Bioinformatics. 24(11):1403–1405p.

Jombart, T., C. Collins. 2015. A tutorial for Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) using adegenet 2.0.0. Imperial College London. 43p.

Jombart, T., S. Devillard, F. Balloux. 2010. Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet.* 11(94):1-15.

Kessler, W. S. 2006. The circulation of the Eastern Tropical Pacific: a review. *Prog. Oceanogr.* 69:181–217.

Knutsen, H., P.E. Jorde, C. André, C. Stenseth. 2003. Fine-scaled geographical population structuring in a highly mobile marine species: the Atlantic cod. *Mol. Ecol.* 12:385-394.

Lewallen, E. A., A. J. Bohonak, C. A. Bonin, A. J. van Wijnen, R. L. Pitman, N. R. Lovejoy. 2016. Population Genetic Structure of the Tropical Two-Wing Flyingfish (*Exocoetus volitans*). *PLoS ONE.* 11(10): e0163198. doi:10.1371/journal.

Liu, Z. J., J. F. Cordes. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture.* 238(1-4):1–37.

Luikart, G. J. M. Cornuet. 1997. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Cons. Biol.* 12: 228-237.

Martínez, A. S. J. R. Willoughby, M. R. Christie. 2018. Genetic diversity in fishes is influenced by habitat type and life-history variation. *Ecol Evol.* 8:12022–12031.

Martínez-Matus, E. 2016. Diversidad genética y éxito reproductivo del Jurel de Castilla *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833) en cautiverio. Tesis (Maestría en Ciencias). Ensenada, México. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 88p.

Martinez-Takeshita, N., C. M. Purcell, C. L. Chabot., M. T. Craig, C. N. Paterson, J. R. Hyde, L. G. Allen. 2015. A Tale of Three Tails: Cryptic Speciation in a Globally Distributed Marine Fish of the Genus *Seriola*. 103(2):357-368.

Miller, P.A., A.J. Fitch, M. Gardner, K.S. Hutson, G. Mair. 2011. Genetic population structure of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) in temperate Australasian waters inferred from microsatellite markers and mitochondrial DNA. *Aquaculture*. 319:328-336.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Genetics*. 148:1325-1332.

Nielsen, E. E., M. M. Hansen, D. Meldrup. 2006. Evidence of microsatellites hitchhiking selection in Atlantic cod (*Gadus morhua* L): implications for inferring population structure in nonmodel organisms. *Mol. Ecol.* 15:3219-3229.

Nugroho, E., N. Taniguchi. 1999. Isolation of Greater Amberjack microsatellite DNA and their application as genetic marker to species of genus *Seriola* from Japan. *Fish. Sci.* 65(3):353-357.

Nugroho, E. N., D. J. Ferrell, P. Smith, N. Taniguchi. 2001. Genetic divergence of kingfish from Japan, Australia and New Zealand inferred by microsatellite DNA and mitochondrial DNA control region markers. *Fish. Sci.* 67:843-850.

Ohara, E., T. Nishimura, T. Sakamoto, Y. Nagakura, K. Mushiake, N. Okamoto. 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci from yellowtail *Seriola quinqueradiata* and cross-species amplification within the genus *Seriola*. *Mol. Ecol. Notes*. 3:390-391.

Olivas-Hernández, J. L. 2018. Estructura genética poblacional del carpintero de gila (*Melanerpes uropygialis*) mediante análisis de microsatélites en el Noroeste de México. Tesis (Licenciatura en Biología). Culiacán, México. Universidad de Sinaloa. 67p.

Palumbi, S. R. 2003. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecol. Appl.* 13(1):146-158.

Peakall, R., P. E. Smouse. 2012. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics.* 28: 2537-2539.

Piñero, D. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. En: Soberón, J., G. Halfter, J. Llorente-Bousquets (eds.). *Capital Natural de México, Volumen I. Conocimiento actual de la biodiversidad.* CONABIO. México. pp437-494.

Plank, S., C. Lowe, K. Feldheim, R. Wilson, J. Brusslan. 2010. Population genetic structure of the round stingray *Urobatis halleri* (Elasmobranchii: Rajiformes) in southern California and the Gulf of California. *J. Fish Biol.* 77:329–340

Premachandra, H.K.A., F. Lafarga-De la Cruz, Y. Takeuchi, A. Miller, S. Fielder, W. O'Connor, C. H. Frère, N. H. Nguyen, I. Bar, W. Knibb. 2017. Genomic DNA variation confirmed *Seriola lalandi* comprises three different populations in the Pacific, but with recent divergence. *Sci. Rep.* 7:1-11.

Pritchard, J. K., M. Stephens, P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 2:945-959.

Purcell, C.M., C.L. Chabot, M. T. Craig, N. Martinez-Takeshita, L.G. Allen, J. R. Hyde. 2015. Developing a genetic baseline for the yellowtail amberjack species complex, *Seriola lalandi* sensu lato, to assess and preserve variation in wild populations of these globally important aquaculture species. *Conserv Genet.* 16:1475–1488.

R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.

- Renshaw, M. A., J. C. Patton, C. E. Rexroad III, J. R. Gold. 2006. PCR primers for trinucleotide and tetranucleotide microsatellites in greater amberjack, *Seriola dumerili*. Mol. Ecol. Notes. 6:1162-1164.
- Renshaw, M. A., J. C. Patton, C. E. Rexroad III, J. R. Gold. 2007. Isolation and characterization of dinucleotide microsatellites in greater amberjack, *Seriola dumerili*. Conserv. Genet. 8:1009-1011.
- Renshaw, M. A., J. R. Gold. 2009. Genetic Tools to Identify Species of *Seriola* in the U.S. South Atlantic and Gulf of Mexico. Gulf Mex. Sci. 27(2):125-130.
- Renshaw, M. A., A. Buentello, J. R. Gold. 2012. Characterization of Greater Amberjack Microsatellite Markers in Lesser Amberjacks, Yellowtail Jacks, Almaco Jacks, and Banded Rudderfish. N. Am. J. Aquac. 74(4):522-529.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. Evolution. 1: 223-225.
- Robertson, R., K. L. Cramer. 2009. Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. Mar. Ecol. Prog. Ser. 380:1-17.
- Roo, J., H. Fernández-Palacios, C. M. Hernández-Cruz, A. Mesa-Rodríguez, D. Schuchardt, M. Izquierdo. 2014. First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. Aquac. Res. 45(4):689-700.
- Rosenberg, N. A. DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. Mol. Ecol. Notes. 4(1):137-138.
- Rousset, F. 2008. GENEPOP' 007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resour. 1:103-106.
- Rousset, F., M. Raymond. 1995. Testing heterozygote excess and deficiency. Genetics. 140:1413-1419.

SAGARPA. 2006. Carta Nacional de Pesca. Diario Oficial (México).Viernes 25 de agosto de 2006. Segunda Sección. 1-128 p.

Sambrook J., Fritschi E., Maniatis T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, 2nd edition.

Sandoval-Huerta, E. R., R. G. Beltrán-López, C. R. Pedraza-Marrón, M. A. Paz-Velásquez, A. Angulo, D. R. Robertson, E. Espinoza, O. Domínguez-Domínguez. 2019. The evolutionary history of the goby *Elacatinus puncticulatus* in the tropical eastern pacific: Effects of habitat discontinuities and local environmental variability. *Mol. Phylogenet. Evo.* 130:269-285.

Šegvić-Bubić, T., F. Marrone, L. Grubišić, D. Izquierdo-Gomez, I. Katavić, M. Arculeo, S. Lo Brutto. *Fish. Res.* 179:271-279

Selkoe, K. A., R. J. Tonnen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol. Lett.* 9:615-629.

Selkoe, K. A., J. R. Watson, C. White, T. B. Horin, M. Lacchei, S. Mitarai, D. A. Siegel, S. D. Gaines, R. J. Toonen. 2010. Taking the chaos out of genetic patchiness: seascape genetics reveals ecological and oceanographic drivers of genetic patterns in three temperate reef species. *Mol. Ecol.* 17: 3708-3726.

Sepúlveda, F. A., M. T. González. 2016. Spatio-temporal patterns of genetic variations in populations of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* from the south-eastern Pacific Ocean and potential implications for its fishery management. *J. Fish. Biol.* 90:249-264.

Serrato-Díaz, A., A. Cornejo-Romero, O. Amilpa-Castro. 2013. La biodiversidad y evolución en ambientes acuáticos analizadas con herramientas moleculares. *Hidrobiológica.* 23(3):275-286.

Shaw, P. W., G. J. Pierce, P. R. Boyle. 1999. Subtle population structuring within a highly vagile marine invertebrate, the veined squid *Loligo forbesi*, demonstrated with microsatellite DNA markers. *Mol. Ecol.* 3: 407-417.

Slatkin, M. E. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science.* 236:787–792.

Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.* 462:457-462.

Smith-Vaniz, W.F. 1984. Carangidae. En: Fisher, W., G. Bianchi (eds.) FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Indian Ocean fishing area 51. Vol. 1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia.

Smith-Vaniz, W. F. 1995. Carangidae. Jureles, pámpanos, cojinúas, zapateros, cocineros, casabes, macarelas, chicharros, jorobados, medregales, pez pilota. En: Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter, V. Niem (eds.) Guía FAO para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca. Pacífico Centro-Oriental. Volumen II. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia. pp940-986.

Smith-Vaniz, W. F., M. Curtis, J. T. Williams, J. Brown, F. P. Amargos. 2015. *Seriola rivoliana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T16507347A16510402. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T16507347A16510402>. Versión electrónica. Fecha de acceso 01 Abril 2018.

Sun, D., Y. Ge, Q. Cheng. 2019. Genetic diversity of eight wild populations of *Pampus argenteus* along the coast of China inferred from fifteen polymorphic microsatellite markers. *Braz. J. Oceanogr.* 67:e19251.

Swart, B. L., S. Von der Heyden, A. Bester-van der Merwe, R. Roodt-Wilding. 2015. Molecular systematics and biogeography of the circumglobally distributed genus *Seriola* (Pisces:Carangidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 93:274-280.

Swart, B. L., A. Bester-van der Merwe, R. Roodt-Wilding. 2016. Phylogeography of the pelagic fish *Seriola lalandi* at different scales: confirmation of inter-ocean population structure and evaluation of southern African genetic diversity. *AFR. J. MAR. SCI.* 1-12.

Vähä, J. K., J. Erkinaro, E. Niemelä, C. R. Primmer. 2007. Life-history and habitat features influence the within-river genetic structure of Atlantic salmon. *Mol. Ecol.* 16(13): 2638-2654.

Valenzuela-Quiñonez, F., J. A. De-Anda-Montañez, E. Gilbert-Horvath, J. C. Garza, F. J. García-De León. 2016. Panmixia in a Critically Endangered Fish: The Totoaba (*Totoaba macdonaldi*) in the Gulf of California. *J. Hered.* 107(6):496–503.

Van-Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, Derek P. M. Wills, P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes.* 3:535-538.

Vázquez-Lobo, A.Y., A. E. Morales-García. 2014. Microsatélites. En: Cornejo-Romero, A., A. Serrato-Díaz, B. Rendón-Aguilar, M.G. Rocha-Munive (eds). *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos.* SEMARNAT-INECC-UAM I. Primera edición. México, D.F. pp75-100.

Wang, D., H. Yao, Y. Li, Y. Xu, X. Ma, H. P Wang. 2019. Global diversity and genetic landscape of natural populations and hatchery stocks of largemouth bass *Micropterus salmoides* across American and Asian regions. *Sci. Rep.* 9:16697.

Ward, R. D., M. Woodwark, D. O. F. Skibinski. 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and andromus fishes. *J. Fish. Biol.* 44:213-232.

- Ward, R. D. 2000. Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*. 420:191-201.
- Ward, R.D, T. S. Zemlak, B. H Innes, P. R. Last, P. D. N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 360(1462):1847–1857.
- Ward, R. D. 2006. The importance of identify spatial population structure in restocking and stock enhancement programmes. *Fish. Res.* 80:9-18.
- Ward, R. D., R. Hanner, P. D. N. Hebert. 2009. The campaign to DNA barcode all fishes FISH-BOL. *J. Fish. Biol.* 74:329–356.
- Wagner, A. 2007. Rapid Detection of Positive Selection in Genes and Genomes Through Variation Clusters. *Genetics*. 176:2451-2463.
- Weir, B. 1996. *Genetic Data Analysis II: methods for discrete population genetic data*. Sinauer Associates, Inc. 2a edición. Sunderland, USA. 445p.
- Weir, B., C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution*. 38:1358-1370.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15:323-354.

11. ANEXOS

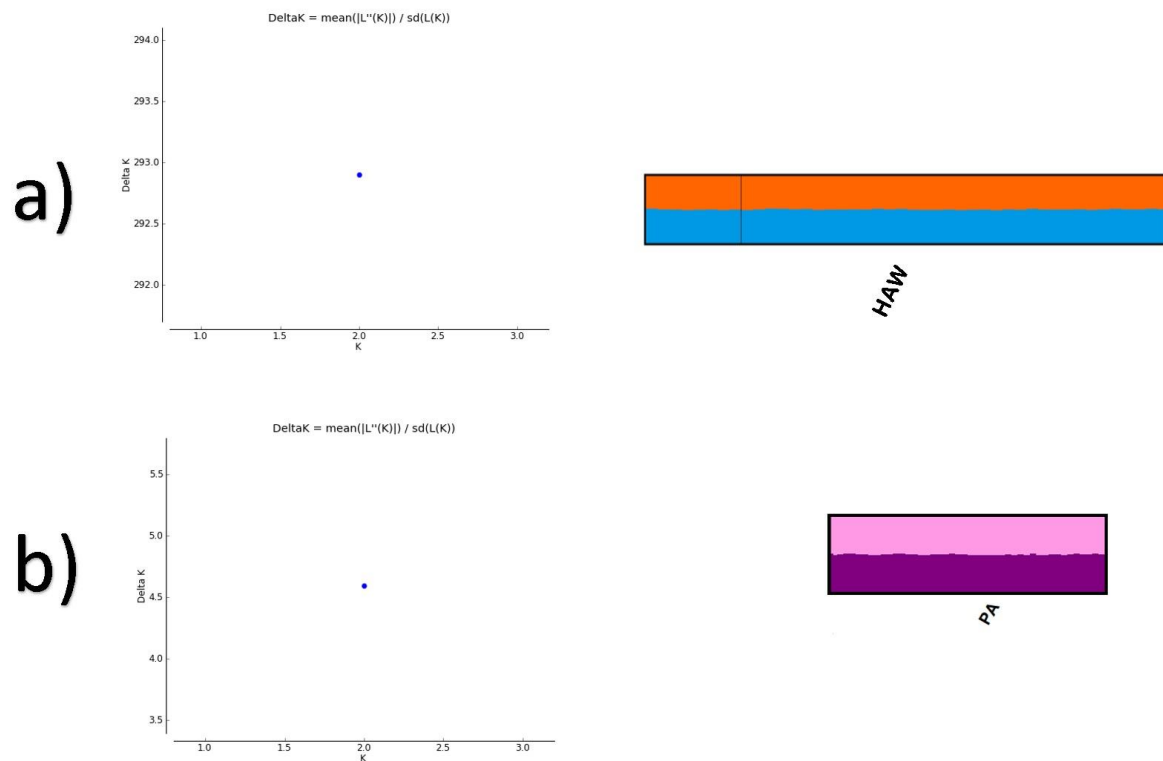
Anexo A. Resultados obtenidos por locus y localidad de muestreo para los 20 loci microsatélites empleados en *Seriola rivoliana* en el océano Pacífico. Se presenta la frecuencia de alelos nulos (AN) con valores bajos o insignificantes (<0.05), medios o moderados (0.05-0.20 representados en negritas) y altos (>0.20 representados en negritas y sombreado en gris claro); heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (He), probabilidad de desequilibrio de Hardy-Weinberg (*p-value*, en gris oscuro $p<0.0025$) después de la corrección de Bonferroni. Los análisis se hicieron en el programa FreeNA (Chapuis y Estoup, 2007) para el cálculo de AN y Arlequin v.3.5.2.2 (Excoffier y Lischer 2010) para los valores de heterocigosidad. Nombre de la localidad (Loc), multilocus (ML), no significativo (ns).

Loc		Sriv5	Sriv7	Sriv43	Sriv18	Sriv24	Sriv15	Sriv21	Sriv11	Sriv45	Sriv46	Sriv44	Sriv20	Sriv16	Sriv29	Sriv8	Sriv35	Sriv34	Sriv42	Sriv32	Sriv28	ML
HAW	AN	0.06	0.00	0.00	0.00	0.01	0.04	0.00	0.00	0.01	0.24	0.08	0.00	0.03	0.08	0.00	0.03	0.04	0.07	0.14	0.00	0.04
	Ho	0.43	0.68	0.98	0.74	0.25	0.53	0.81	0.84	0.78	0.35	0.70	0.86	0.74	0.68	0.88	0.77	0.30	0.73	0.49	0.58	0.66
	He	0.53	0.71	0.88	0.49	0.26	0.49	0.78	0.72	0.70	0.82	0.86	0.84	0.77	0.86	0.69	0.84	0.34	0.88	0.70	0.51	0.68
	<i>p-value</i>	0.20	0.43	0.06	0.00	1.00	0.01	0.03	0.26	0.03	0.00	0.02	0.26	0.65	0.16	0.02	0.13	0.52	0.20	0.00	0.52	ns
CDC	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.02
	Ho	0.50	1.00	1.00		1.00		0.50		1.00		0.50	1.00		1.00	1.00	0.50	0.50	0.50	0.00	1.00	0.73
	He	0.83	1.00	1.00	M	0.83	M	0.50	M	0.67	M	0.50	1.00	M	1.00	0.83	0.50	0.50	0.50	0.67	0.67	0.73
	<i>p-value</i>	0.33	1.00	1.00		1.00		1.00		1.00		1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.33	1.00	ns
SJC	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.18	0.04	0.00	0.00	0.03	0.06	0.00	0.23	0.03	0.14	0.00	0.04
	Ho	0.52	0.81	1.00	0.52	0.71	0.53	0.53	0.38	0.67	0.55	0.81	0.90	0.14	0.71	0.76	0.52	0.10	0.71	0.29	0.75	0.60
	He	0.46	0.72	0.86	0.44	0.67	0.40	0.50	0.32	0.47	0.90	0.80	0.79	0.14	0.81	0.80	0.56	0.42	0.83	0.49	0.48	0.59
	<i>p-value</i>	1.00	0.90	0.19	0.61	0.65	0.27	0.66	1.00	0.08	0.00	0.05	0.29	1.00	0.51	0.00	0.39	0.00	0.12	0.00	0.02	ns
IC	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.03

	Ho		1.00	1.00	0.50	0.50		1.00		0.50	0.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.50	0.50	0.00	0.50	0.65
	He	M	0.83	0.67	0.50	0.50	M	0.83	M	0.50	0.67	0.67	0.67	0.50	0.83	1.00	0.67	0.50	0.83	0.67	0.50	0.67
	<i>p-value</i>		1.00	1.00	1.00	1.00		1.00		1.00	0.33	1.00	1.00	1.00	0.33	1.00	1.00	1.00	0.33	0.34	1.00	ns
SE	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.32	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.11	0.04
	Ho	0.60	0.64	0.91	0.45	0.64	0.40	0.64		0.50	0.44	1.00	1.00	0.00	0.82	0.89	0.60	0.55	1.00	0.30	0.20	0.61
	He	0.51	0.68	0.92	0.37	0.66	0.34	0.45	M	0.43	0.75	0.83	0.93	0.48	0.85	0.78	0.51	0.44	0.85	0.55	0.34	0.61
	<i>p-value</i>	0.43	0.93	0.83	1.00	0.47	1.00	0.48		1.00	0.02	0.94	0.65	0.00	0.04	0.70	1.00	1.00	0.51	0.02	0.31	ns
F1	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.32	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
	Ho		0.88	1.00		0.50		0.63		0.00	0.88	0.00		0.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.88	0.88	0.72
	He	M	0.69	0.72	M	0.40	M	0.46	M	M	0.53	0.87	0.50	M	0.40	0.78	0.53	0.53	0.86	0.64	0.53	0.60
	<i>p-value</i>		1.00	0.09		1.00		0.49			0.05	0.31	0.01		1.00	0.38	0.02	0.02	0.13	0.29	0.14	ns
MAZ	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	Ho	1.00	1.00	0.75	0.75	0.75	0.75	0.50	0.25	0.67	0.50	0.25	0.75	0.50	0.75	0.75	0.33	1.00	0.50	0.50	0.75	0.65
	He	0.82	0.82	0.82	0.54	0.75	0.54	0.43	0.25	0.53	0.86	0.61	0.89	0.43	0.86	0.75	0.33	0.57	0.83	0.46	0.54	0.63
	<i>p-value</i>	0.77	1.00	0.77	1.00	0.66	1.00	1.00	1.00	1.00	0.07	0.15	0.13	1.00	0.65	1.00	1.00	0.31	0.33	1.00	1.00	ns
ZIH		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	Ho	0.50	0.50	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	0.50		1.00	0.50		0.00	1.00		1.00	1.00	1.00	0.50	0.78
	He	0.50	0.50	1.00	M	0.83	0.67	0.83	0.67	0.50	M	0.67	0.83	M	0.67	1.00	M	0.67	1.00	0.67	0.50	0.72
	<i>p-value</i>	1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	0.33		0.33	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	ns
ACA	AN	0.01	0.01	0.01	0.00	0.03	0.00	0.01	0.00	0.02	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.02
	Ho	0.44	0.72	0.89	0.32	0.60	0.41	0.54	0.08	0.40	0.19	0.88	0.88		0.73	0.82	0.52	0.52	0.92	0.48	0.75	0.58
	He	0.52	0.73	0.91	0.27	0.68	0.41	0.60	0.08	0.43	0.69	0.77	0.75	M	0.69	0.75	0.48	0.42	0.80	0.59	0.50	0.58
	<i>p-value</i>	0.14	0.28	0.12	1.00	0.09	1.00	0.49	1.00	0.79	0.00	0.84	0.04		0.96	0.62	0.63	0.70	0.20	0.00	0.06	ns
PMA	AN	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	Ho	0.00	0.50	0.50	1.00	1.00	0.50	1.00		0.50	0.50	1.00			0.50	1.00	0.50		1.00	1.00	0.50	0.69
	He	0.67	0.83	0.83	0.67	0.83	0.50	0.83	M	0.50	0.83	0.83	M	M	0.50	0.67	0.50	M	1.00	0.83	0.50	0.71
	<i>p-value</i>	0.33	0.33	0.34	1.00	1.00	1.00	1.00		1.00	0.33	1.00			1.00	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	ns

OAX	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	Ho	0.50	1.00	1.00	0.50	1.00		0.00		0.50	0.50	0.50			0.50	1.00	0.50		1.00	0.50	0.50	0.63
	He	0.50	0.83	1.00	0.50	0.67	M	0.67	M	0.50	0.83	0.50	M	M	0.83	1.00	0.50	M	1.00	0.50	0.50	0.69
	<i>p-value</i>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		0.33		1.00	0.33	1.00			0.33	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	ns
PAN	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.32	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.02
	Ho	0.50	0.75	1.00		0.50		0.60		0.00	0.50	0.86			1.00	0.86	0.63		0.63	0.38	0.75	0.64
	He	0.40	0.68	0.89	M	0.58	M	0.71	M	0.53	M	0.68	0.82	M	0.82	0.79	0.49	M	0.54	0.53	0.50	0.64
	<i>p-value</i>	1.00	0.85	0.45		0.44		1.00		0.20		0.02	0.41		0.83	1.00	1.00		0.40	0.18	0.44	ns
PA	AN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.02	
	Ho	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00					0.17	0.15	1.00	0.08	0.92	0.77	1.00		1.00	0.00	0.15	0.68
	He	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	M	M	M	M	0.49	0.15	0.52	0.08	0.52	0.49	0.52	M	0.52	0.27	0.15	0.42
	<i>p-value</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					0.01	1.00	0.00	1.00	0.01	0.07	0.00		0.00	0.01	1.00	ns

Anexo B. Número más probable de grupos genéticos de *Seriola rivoliana* para las corridas independientes en a) HAW ($\Delta K=2$) y b) PA ($\Delta K=2$) con 20 loci microsatélites basado en el ΔK (Evanno *et al.*, 2005). Se presenta el gráfico de barras del coeficiente de ancestría de los individuos a partir del análisis bayesiano en STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000).



Anexo C. Grupos genéticos de *Seriola rivoliana* para las corridas en a) 18 loci neutrales y b) dos loci bajo selección (*Sriv16* y *Sriv34*) basado en el ΔK (Evanno *et al.*, 2005). Se presenta el gráfico de barras del coeficiente de ancestría de los individuos a partir del análisis bayesiano en STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). Cada barra vertical representa a un individuo con la probabilidad de pertenencia a un grupo genético. Se muestra los cinco grupos genéticos obtenidos en los análisis con 20 loci: naranja= Hawái (HAW), marrón= Cultivo (F1), verde= Costa de la Península y Golfo de California (CPG), azul= Pacífico Oriental (PAO) y púrpura= Península de Azuero (PA).

