



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**HERRAMIENTAS GENÓMICAS DE VANGUARDIA PARA EL
MANEJO Y CONSERVACIÓN DE LA TOTOABA (*Totoaba
macdonaldi*)**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

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

P r e s e n t a

Juan Paulo Mora Martínez

La Paz, Baja California Sur, septiembre de 2026.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las **12:00** horas del día **14** del mes de **julio** del año 2026, se procedió por las personas abajo firmantes, integrantes 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:

"HERRAMIENTAS GENÓMICAS DE VANGUARDIA PARA EL MANEJO Y CONSERVACIÓN DE LA TOTOABA (*Totoaba macdonaldi*)"

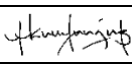
Presentada por el alumno:

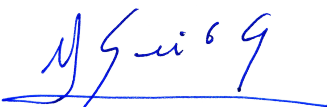
Juan Paulo Mora Martínez

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Biología Marina**

Después de intercambiar opiniones las personas integrantes 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

Grado y nombre	Estatus	Firma
Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez	Co-Director	
Dr. Ricardo Pérez Enríquez	Co-Director	
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez	Co-Tutor(a)	
Dr. Pedro Cruz Hernández	Co-Tutor(a)	
Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes	Co-Tutor(a)	
Dra. Marcela Uliano da Silva	Co-Tutora	 Morala Uliano da Silva


Dra. Alejandra Nieto Garibay,

Directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos



La Paz, Baja California Sur, a 02 de julio de 2026.

Los miembros del comité de tesis del estudiante Juan Paulo Mora Martinez del Programa de Doctorado en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio:

iThenticate

- Filtros utilizados:

Bibliografía y Citas textuales

- Porcentajes de similitud:

Se muestra captura de pantalla

		Identificación de reporte de similitud: oid:3117:604260657	
NOMBRE DEL TRABAJO		AUTOR	
Tesis_DUMPRN_JPMM_FVQ_RPE.docx		Juan Paulo Mora Martinez	
RECuento DE PALABRAS		RECuento DE CARACTERES	
32138 Words		171075 Characters	
RECuento DE PÁGINAS		TAMAÑO DEL ARCHIVO	
113 Pages		8.8MB	
FECHA DE ENTREGA		FECHA DEL INFORME	
Jul 2, 2026 12:38 PM PDT		Jul 2, 2026 12:41 PM PDT	
● 16% de similitud general El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos. • 15% Base de datos de Internet • Base de datos de Crossref • 6% Base de datos de publicaciones • Base de datos de contenido publicado de Crossref			
● Excluir del Reporte de Similitud • Material bibliográfico • Material citado			

Co/Directores

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez

Dr. Ricardo Pérez Enriquez

Estudiante

Juan Paulo Mora Martinez

Personal técnico de asesoría en el análisis

Susana Luna García

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Director de Tesis

Dr. Ricardo Pérez Enríquez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Director de Tesis

Dr. Juan Antonio de Anda Montañez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Dr. Pedro Cruz Hernández
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Dra. Marcela Uliano da Silva
Wellcome Sanger Institute
Co-Tutora de Tesis

Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes
Universidad Autónoma de Baja California
Co-Tutor de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Dr. Ricardo Pérez Enríquez
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez
Dr. Pedro Cruz Hernández
Dra. Marcela Uliano da Silva
Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes

Jurado de Examen

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Dr. Ricardo Pérez Enríquez
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez
Dr. Pedro Cruz Hernández
Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes

Suplentes

Dra. Marcela Uliano da Silva
Dr. David Arturo Paz García

Resumen

La *Totoaba macdonaldi* es un pez endémico del Golfo de California en peligro de extinción, sujeto a una intensa pesca ilegal por su buche y a un programa de repoblamiento mediante Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs). Esta investigación tuvo como propósito caracterizar la diversidad, la estructura genética y el parentesco de la población silvestre y de los reproductores en cautiverio de dos UMAs: el Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES) y la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) a lo largo de tres generaciones, así como diseñar un panel reducido de SNPs *in silico* para la reconstrucción de pedigrí y la trazabilidad de la especie. A partir de la secuenciación ddRAD-seq de 145 individuos se obtuvo un conjunto neutral de 4,992 SNPs mediante ensamblaje *de novo*, con una profundidad de cobertura de 90× y un error de genotipificación de 0.03%. La población silvestre presentó una diversidad genética relativamente alta, ausencia de estructura genética (panmixia) y un tamaño efectivo poblacional grande ($N_e > 9,000$), mientras que los reproductores de las UMAs mostraron menor diversidad, una disminución progresiva de la riqueza alélica y la heterocigosidad esperada a lo largo de las generaciones, tamaños efectivos muy bajos ($N_e < 20$) y un elevado nivel de parentesco al interior de las UMAs. Se detectó diferenciación genética significativa entre la población silvestre y las UMAs, así como entre ambas UMAs. La asignación de origen con la base genómica completa tuvo una alta precisión de asignación, especialmente para los individuos silvestres con el set completo de SNPs. La selección de un panel reducido de 100 SNPs cuenta con elevada probabilidad de inclusión (> 97%) y de exclusión (> 97%) posibilitando la reconstrucción de pedigrí de ambas UMAs con la misma resolución que la base completa, y el panel combinado de 150 SNPs igualó el desempeño de asignación del conjunto de referencia. Se concluye que la totoaba silvestre presenta altos valores de variabilidad genética, en tanto que las UMAs requieren la incorporación de nuevos reproductores silvestres y el intercambio de material genético entre UMAs para frenar su erosión genética. El panel reducido de doble propósito constituye una herramienta potencialmente costo-efectiva y estandarizable para el manejo genético de las UMAs y la trazabilidad del recurso.

Palabras clave: *Totoaba macdonaldi*, ddRAD-seq, panel de SNPs, trazabilidad, conservación genómica.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2143-4356>

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez



Dr. Ricardo Pérez Enríquez

Summary

Totoaba macdonaldi is an endangered fish endemic to the Gulf of California, subject to intense illegal fishing for its swim bladder and to a restocking program through Wildlife Conservation Management Units (UMAs). The purpose of this work was to characterize the genetic diversity, genetic structure, and relatedness of the wild population and of the captive broodstock of two UMAs, the Marine Species Breeding Center of the State of Sonora (CREMES) and the Autonomous University of Baja California (UABC), across three generations, as well as to design a reduced *in silico* SNP panel for pedigree reconstruction and traceability of the species. Through ddRAD-seq sequencing of 145 individuals, a neutral set of 4,992 SNPs was obtained by *de novo* assembly, with a coverage depth of 90× and a genotyping error of 0.03%. The wild population showed relatively high genetic diversity, absence of genetic structure (panmixia), and a large effective population size ($N_e > 9,000$), whereas the UMA broodstock showed lower diversity, a progressive decline in allelic richness and expected heterozygosity across generations, very low effective sizes ($N_e < 20$), and a high level of relatedness within the UMAs. Significant genetic differentiation was detected between the wild population and the UMAs, as well as between the two UMAs. Origin assignment using the full genomic dataset achieved high assignment accuracy, particularly for wild individuals with the complete SNP set. The selection of a reduced 100-SNP panel showed high inclusion ($> 97\%$) and exclusion ($> 97\%$) probabilities, enabling the pedigree reconstruction of both UMAs with the same resolution as the full dataset, and the combined 150-SNP panel matched the assignment performance of the reference set. It is concluded that wild totoaba shows high values of genetic variability, whereas the UMAs require the incorporation of new wild broodstock and the exchange of genetic material between UMAs to curb their genetic erosion. The dual-purpose reduced panel constitutes a cost-effective and standardizable tool for the genetic management of UMAs, traceability of the resource, and support for law enforcement.

Keywords: *Totoaba macdonaldi*, ddRAD-seq, SNP panel, traceability, genomic conservation.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2143-4356>

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez



Dr. Ricardo Pérez Enríquez

Dedicatoria

A mis padres Sanjuana y Paulo Cesar

A mi esposa Paulina Mejia y mis hijos León y Máximo

Agradecimientos

Al CIBNOR por el apoyo y las facilidades para realizar mis estudios de Posgrado.

A todo el personal administrativo y académico del CIBNOR por el apoyo durante todo mi doctorado en especial a Tania Verónica Núñez, Osvelia Ibarra Morales, Horacio Sandoval Gómez, Adriana Teresa Franzoni, Raquel Emilia Herrera, Fabiola Arellano y la Dra. Alejandra Nieto.

Al SECIHTI por la beca otorgada con número de registro CVU 859051.

A los proyectos de CONACyT que financiaron este proyecto: Patrones convergentes evolutivos de adaptación local en el ambiente marino (321016), paisaje genómico en el medio marino: patrones de diversidad adaptativa (CB-2015-01-257524), and “Un nuevo enfoque para la recuperación, inspección y vigilancia de recursos sobreexplotados de alto valor comercial, caso de estudio: La pesquería de abulón (PDCPN-20151-1743).”

A mis Co-directores de tesis, el Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez y el Dr. Ricardo Pérez Enríquez, por su guía, apoyo y paciencia a lo largo de este camino. Gracias por la confianza que depositaron en mí para desarrollar este proyecto, por compartir sus conocimientos y por motivarme siempre a dar un paso más. Muchas gracias.

A mis asesores de tesis, el Dr. Juan Antonio de Anda Montañez, el Dr. Pedro Cruz Hernández, la Dra. Marcela Uliano da Silva y el Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes, por sus valiosos comentarios, observaciones y revisiones, que enriquecieron significativamente este trabajo. Gracias también por su paciencia, disposición y apoyo durante este proceso.

Al Laboratorio de Genética Molecular del CIBNOR, y en especial a la Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra, por abrirnos las puertas del laboratorio y brindarnos las facilidades para el desarrollo de este trabajo. A la Dra. Crisalejandra Rivera Pérez, por su disposición y apoyo para resolver cada duda que surgió durante este proceso. Y a la M. en C. Delia Rojas Posadas, por sus valiosas asesorías, recomendaciones y el tiempo que dedicó a compartir sus conocimientos durante mi estancia en el laboratorio.

A la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Universidad Autónoma de Baja California (UBP-UABC) y al Dr. Conal David True, por abrirme las puertas y facilitar la obtención de las muestras que hicieron posible este trabajo. De manera especial, al Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes, por compartir sus conocimientos, por la confianza y por el acceso a la valiosa información que contribuyó al desarrollo de esta investigación.

Al Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora, Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES), y a los doctores Ramón A. Nenninger-Check, Pablo Martínez-Lara, Anna Judith Pérez-Báez, Jorge Noé Trujillo-Villalba y Dennise Alejandra Trujillo-Villalba, por

facilitar la obtención de las muestras y por sus valiosos comentarios y revisiones, que contribuyeron al fortalecimiento de este trabajo.

Al equipo técnico del laboratorio Noemi Bocanegra Castillo, y en especial a Horacio Bervera León, por su apoyo en la localización de las muestras y por proporcionar información indispensable.

Agradezco también a la Dra. Clara E. Galindo Sánchez y al Laboratorio de Genómica Funcional del CICESE, así como a la Dra. Fabiola Lafarga de La Cruz y al Laboratorio de Producción de Abulón del CICESE, por facilitar el acceso a sus instalaciones de laboratorio e infraestructura técnica, durante mi estadía en Ensenada.

A mis compañeros de trabajo y laboratorio, Jorge, Anais, Scarlet, Vladimir, Hugo, Erick por su apoyo en más de una ocasión.

A toda mi familia, por estar siempre pendiente de mi progreso y por acompañarme en cada etapa de este camino con su apoyo, motivación y cariño. Gracias por creer en mí, por celebrar cada logro y por darme fuerzas para seguir adelante.

A mi esposa, Paulina, por su amor, apoyo y paciencia incondicionales. Gracias por estar a mi lado en cada etapa de este camino, por sostenerme cuando más de una vez estuve a punto de rendirme y por recordarme siempre que era capaz de llegar hasta aquí. Gracias también por todas tus asesorías, por compartir tus conocimientos y por cada una de las horas dedicadas a mejorar este trabajo. Este logro también es tuyo. Te amo.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vi
Lista de figuras	ix
Lista de tablas	xii
Abreviaturas	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Totoaba	4
2.1.1 Biología, distribución e historia pesquera	4
2.1.2 Estado de conservación, regulación y comercio ilegal	5
2.1.3 Cría en cautiverio: Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs)	7
2.2 Herramientas genómicas para conservación, acuicultura y trazabilidad	8
2.2.1 Diversidad genética y tamaño efectivo en poblaciones manejadas	8
2.2.2 Estructura poblacional y asignación de origen	9
2.2.3 Reconstrucción de parentesco y pedigrí	10
2.2.4 Paneles reducidos de SNPs	11
2.3 Genética en totoaba	12
2.3.1 Estudios genéticos previos en totoaba	12
2.3.2 Herramientas genéticas existentes	13
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. HIPÓTESIS	16
5. OBJETIVOS	17
5.1 Objetivo general	17
5.2 Objetivos particulares	17
6. MATERIAL Y MÉTODOS	18
6.1 Muestreo	18
6.1.1 Área de estudio	18
6.1.2 Muestreo de individuos silvestres	19
6.1.3 Muestreo de reproductores cautivos en UMAs	19
6.2 Extracción de ADN genómico y preparación de bibliotecas ddRAD-seq	20
6.3 Procesamiento bioinformático y filtrado de SNPs	21
6.3.1 Demultiplexado y control de calidad de secuencias crudas	21
6.3.2 Ensamblaje <i>de novo</i> de loci y descubrimiento de SNPs	21
6.3.3 Detección de loci candidatos a selección	22
6.3.4 Desequilibrio de ligamiento y equilibrio de Hardy-Weinberg	22
6.4 Diversidad genética y tamaño efectivo poblacional	23
6.4.1 Métricas de diversidad genética	23
6.4.2 Tamaño efectivo poblacional (N_e)	23
6.5 Estructura poblacional y parentesco	23

6.5.1 Diferenciación genética por pares (F_{ST})	23
6.5.2 Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC)	24
6.5.3 Análisis bayesiano de agrupamiento (STRUCTURE)	24
6.5.4 Estimación de parentesco.....	24
6.6 Asignación de origen con base de datos global	24
6.7 Diseño de paneles reducidos de SNPs.....	25
6.7.1 Paneles de pedigrí (selección por MAF)	25
6.7.2 Paneles de trazabilidad (selección por F_{ST})	26
6.7.3 Panel combinado de doble propósito.....	26
6.8 Reconstrucción de pedigrí con paneles reducidos.....	27
6.9 Validación del panel combinado en asignación de origen	28
7. RESULTADOS.....	29
7.1 Preparación de bibliotecas genómicas y secuenciación.....	29
7.2 Procesamiento bioinformático y filtrado de SNPs	31
7.2.1 Demultiplexado y control de calidad de secuencias crudas	31
7.2.2 Ensamblaje <i>de novo</i> de loci y descubrimiento de SNPs.....	31
7.2.3 Filtrado final e individuos retenidos	32
7.3 Diversidad genética y tamaño efectivo poblacional	33
7.3.1 Diversidad genética.....	33
7.3.2 Tamaño efectivo poblacional (N_e).....	34
7.4 Estructura poblacional.....	35
7.4.1 Estructura entre localidades silvestres	35
7.4.2 Estructura entre la población silvestre y las UMAs	37
7.4.3 Estimación de parentesco.....	39
7.5 Asignación de origen con base de datos global	40
7.5.1 Población silvestre contra UMAs combinadas	40
7.5.2 Población silvestre contra UMAs individuales.....	42
7.5.3 Probabilidades de asignación al conjunto de origen desconocido.....	43
7.6 Diseño de paneles reducidos de SNPs.....	43
7.6.1 Paneles de pedigrí (selección por MAF)	43
7.6.2 Paneles de trazabilidad (selección por F_{ST})	45
7.7 Reconstrucción de pedigrí con paneles reducidos.....	46
7.7.1 Desempeño de los paneles independientes específicos por UMA	46
7.7.2 Desempeño del panel integrado para ambas UMAs	47
7.8 Validación del panel combinado en asignación de origen	50
7.8.1 Escenario de dos grupos: cautivo contra silvestre	50
7.8.2 Escenario de tres grupos: silvestre, CREMES y UABC	50
7.8.3 Desempeño del panel combinado de 150 SNPs	51
7.8.4 Estructura poblacional con el panel multipropósito	53
8. DISCUSIÓN.....	55
8.1 Muestreo, extracción de ADN y preparación de bibliotecas.....	55
8.2 Calidad de los datos y procesamiento bioinformático	56
8.3 Diversidad genética	57
8.4 Tamaño efectivo poblacional	58
8.5 Estructura poblacional.....	59

8.5.1 Panmixia en la población silvestre.....	59
8.5.2 Diferenciación entre la población silvestre y las UMAs.....	60
8.5.3 Parentesco dentro de las UMAs	60
8.6 Asignación de origen con la base genómica completa.....	61
8.7 Diseño de paneles reducidos de SNPs.....	62
8.8 Reconstrucción de pedigrí	63
8.9 Panel reducido global de doble propósito	64
8.10 Implicaciones para el manejo, la trazabilidad y la aplicación de la ley	65
9. CONCLUSIONES.....	68
10. LITERATURA CITADA	70
11. ANEXOS	78
Anexo A. Preparación de librerías ddRAD-seq descrito por Peterson et al., 2012 con modificaciones.....	78
Anexo B. Parametrización Stacks.	79
Anexo C. Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis.....	81
Anexo D. Resultados completos de las precisiones de asignación con el conjunto genómico completo de 4,992 SNPs.....	82
Anexo E. Reconstrucción de pedigrí por individuo, panel y escenario	84
Anexo F. Resultados completos de las precisiones de asignación de los paneles reducidos de trazabilidad y de los paneles combinados.....	97
Anexo G.-Artículo publicado.-Genomic approach to distinguish between legal captive breeding and illegal wild fishing of threatened totoaba (<i>Totoaba macdonaldi</i>)	99
Anexo H.-Artículo sometido.-Candidate reduced SNP panel for pedigree reconstruction and traceability of captive totoaba (<i>Totoaba macdonaldi</i>).....	111

Lista de figuras

Figura 1. Individuo de <i>Totoaba macdonaldi</i> adulto (Foto tomada por Dr. Juan Antonio de Anda).	4
Figura 2. Mapa del área de estudio en el Golfo de California, indicando las localidades de muestreo silvestre (rojo) y la ubicación de las UMAs (verde). Zona Núcleo (ZON), Roca Consag (ROC), San Luis Gonzaga (SLG), Desemboque (DES) y Bahía Lobos (BAL). UMAs: la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) y el Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES).	18
Figura 3. Diagrama de parametrización para seleccionar los valores de los principales parámetros de stacks.	22
Figura 4. Gel de agarosa al 1 % del ADN genómico de individuos de <i>Totoaba macdonaldi</i> . Carril 1 corresponde a un marcador de peso molecular de 1 kb (Thermo Fisher Scientific®), los carriles 2 al 14 contienen muestras de ADN genómico con una concentración de 250 ng/μl.	29
Figura 5. Productos de PCR de digestión y ligación de la biblioteca genómica verificados por electroforesis en gel de agarosa al 2%. Al centro se muestra escalera 100pb de Thermo Fisher Scientific®.	30
Figura 6. Gel de agarosa al 2 % utilizado para verificar la selección de tamaño de los pools equimolares después del proceso en Pippin Prep (punto de control final). Carril 1 muestra una selección de fragmentos inadecuada, los carriles 2 y 3 presentan la selección de tamaño esperada y el carril 4 corresponde a un marcador de peso molecular de 100 bp.	31
Figura 7. Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) de las cinco localidades silvestres de <i>Totoaba macdonaldi</i> . (A) Selección del número óptimo de grupos (K) mediante el Criterio de Información Bayesiana (BIC). (B) Distribución de las localidades con base en la primera función discriminante. (C) Gráfica de dispersión del DAPC utilizando 30 componentes principales retenidos. BAL = Bahía Lobos; DES = Desemboque; ROC = Roca Consag; SLG = San Luis Gonzaga; ZON = Zona Núcleo.	36
Figura 8. Análisis de agrupamiento individual realizado con el programa STRUCTURE para las cinco localidades silvestres de <i>Totoaba macdonaldi</i> : Bahía Lobos (BAL), Desemboque (DES), Roca Consag (ROC), San Luis Gonzaga (SLG) y Zona Núcleo (ZON). Cada panel representa una solución para un número de grupos genéticos (K) diferente: (A) K = 2, (B) K = 3, (C) K = 4 y (D) K = 5. Cada barra vertical representa un individuo y la proporción de cada color indica la probabilidad de asignación de ese individuo a cada uno de los grupos genéticos inferidos.	37
Figura 9. Estructura genómica poblacional de la población silvestre y los reproductores de las UMAs CREMES y UABC de <i>Totoaba macdonaldi</i> . (A) Gráfico de dispersión del Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC). (B) Asignación de individuos mediante STRUCTURE para K = 2. (C) Asignación de individuos mediante STRUCTURE para K = 3. Cada barra vertical representa un individuo y la proporción de cada color corresponde a su coeficiente de pertenencia (Q) a los grupos genéticos inferidos.	39
Figura 10. Distribución de los coeficientes de parentesco por pares (Φ) para la población silvestre (A) y las UMAs de CREMES (B) y UABC (C) de <i>Totoaba macdonaldi</i> . Las líneas verticales discontinuas indican los valores de referencia utilizados para inferir el grado de parentesco: $\Phi = 0$ (individuos no emparentados), $\Phi = 0.0625$ (tercer grado), $\Phi = 0.125$ (segundo grado) y $\Phi = 0.25$ (hermanos completos o relaciones de primer grado).	40

Figura 11. Precisión de asignación de individuos mediante máquinas de soporte vectorial (SVM) estimada por validación cruzada de Monte Carlo. Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.8 y 0.9) y tres proporciones de loci de entrenamiento correspondientes al 10 %, 50 % y 100 % de los SNPs con mayor diferenciación genética (F_{ST}). Los resultados se presentan para tres escenarios: 1) Global, utilizando todos los individuos; 2) UMAs, considerando únicamente los reproductores de las UMAs CREMES y UABC; y 3) Silvestre, considerando únicamente los individuos de la población silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.41

Figura 12. Precisión de asignación de individuos mediante máquinas de soporte vectorial (SVM) estimada por validación cruzada de Monte Carlo. Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.8 y 0.9) y tres proporciones de loci de entrenamiento correspondientes al 10 %, 50 % y 100 % de los SNPs con mayor diferenciación genética (F_{ST}). Los resultados se presentan para cuatro escenarios: Global, utilizando todos los individuos; CREMES, y Silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.42

Figura 13. Probabilidades de asignación de los individuos de origen desconocido obtenidas mediante máquinas de soporte vectorial (SVM). (A) Asignación considerando un modelo que agrupa las UMAs CREMES y UABC en una sola (UMAs) frente a la población silvestre. (B) Asignación considerando un modelo que evalúa por separado a CREMES, UABC y la población silvestre. Cada barra representa un individuo de origen desconocido y los colores indican la probabilidad de pertenencia a cada grupo de referencia.....43

Figura 14. Distribución de la frecuencia del alelo menor (MAF) del conjunto neutral de 4,992 SNPs en los reproductores de las UMAs CREMES y UABC de *Totoaba macdonaldi*. El recuadro rojo indica el rango de MAF (0.30–0.50) del cual se seleccionaron los SNPs empleados en la construcción de los paneles para reconstrucción de pedigrí.44

Figura 15. Distribución de los valores de diferenciación genética (F_{ST}) por locus (Weir y Cockerham) en el subconjunto de priorización (hold-out) de *Totoaba macdonaldi*. Las barras grises representan el conjunto neutral de SNPs, mientras que las barras rojas corresponden a los 200 SNPs con mayor F_{ST} priorizados para el desarrollo de los paneles de trazabilidad. Las líneas verticales discontinuas indican los valores de corte correspondientes a los paneles de 50, 100, 150 y 200 SNPs.45

Figura 16. Desempeño de los paneles de pedigrí específicos para cada UMA (CREMES y UABC) en función del tamaño del panel (40, 60, 80 y 100 SNPs). El panel superior muestra la concordancia (%) respecto al conjunto de referencia de 4,992 SNPs y el panel inferior el número de familias recuperadas. Las líneas discontinuas representan el número de familias recuperadas con el conjunto completo de SNPs. Las líneas negras corresponden a la transición $F_0 \rightarrow F_1$ y las grises a la transición $F_1 \rightarrow F_2$47

Figura 17. Probabilidades medianas de inclusión y exclusión de las asignaciones de parentesco obtenidas con los paneles duales de reconstrucción de pedigrí en función del tamaño del panel (Dual 40, Dual 60, Dual 80, Dual 100 y conjunto de referencia de 4,992 SNPs). Se muestran los

resultados para las transiciones $F0 \rightarrow F1$ y $F1 \rightarrow F2$ de las UMAs CREMES y UABC. Los puntos representan la mediana y las barras de error el rango intercuartílico.49

Figura 18. Pedigrí de tres generaciones ($F0$, $F1$ y $F2$) de los reproductores cautivos de *Totoaba macdonaldi* de CREMES y UABC, reconstruido con el panel dual de 100 SNPs en COLONY. Triángulos azules: machos identificados; círculos rojos: hembras identificadas; triángulos y círculos negros: machos y hembras putativas (inferidos); cuadros grises: individuos $F2$ de sexo indeterminado.50

Figura 19. Precisión de asignación de *Totoaba macdonaldi* en función del tamaño del panel de trazabilidad (50, 100, 150 y 200 SNPs) y de los paneles combinados de doble propósito (150_dual y 200_dual). Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.75 y 0.8) mediante validación cruzada de Monte Carlo y máquinas de soporte vectorial (SVM). Los resultados corresponden al escenario de dos grupos y se presentan para tres conjuntos: Global, utilizando todos los individuos; Cautivo, considerando únicamente los reproductores de las UMAs; y Silvestre, considerando únicamente los individuos de la población silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.52

Figura 20. Precisión de asignación de *Totoaba macdonaldi* en función del tamaño del panel de trazabilidad (50, 100, 150 y 200 SNPs) y de los paneles combinados de doble propósito (150_dual y 200_dual), en el escenario de tres grupos. Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.75 y 0.8) mediante validación cruzada de Monte Carlo y máquinas de soporte vectorial (SVM). Los resultados se presentan para cuatro conjuntos: Global, utilizando todos los individuos; CREMES y UABC, considerando por separado los reproductores de cada UMA; y Silvestre, considerando únicamente los individuos de la población silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.53

Figura 21. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de *Totoaba macdonaldi* con base en el panel multipropósito de 150 SNPs, donde se muestran los tres grupos (silvestre, CREMES y UABC) y la subestructura generacional ($F0$, $F1$ y $F2$) dentro de cada UMA.54

Lista de tablas

Tabla 1. Composición de las muestras analizadas de <i>Totoaba macdonaldi</i> . Se muestra número total de individuos colectados N, y el sexo de los individuos F0 y F1.....	20
Tabla 2. Resumen del número de SNPs e individuos retenidos después de cada paso de filtrado, desde el catálogo <i>de novo</i> hasta el conjunto neutral final, para los tres grupos de individuos (Silvestre, CREMES y UABC) de <i>Totoaba macdonaldi</i>	33
Tabla 3. Estadísticos de diversidad genética de <i>Totoaba macdonaldi</i> para la población silvestre y las UMAs CREMES y UABC. Para cada UMA se muestran los valores globales y los correspondientes a las cohortes generacionales F0, F1 y F2. Se presentan el número de individuos (N), la riqueza alélica (Ar), la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e) y el coeficiente de endogamia (F_{IS}).	34
Tabla 4. Tamaño efectivo poblacional (N_e) estimado mediante los métodos de desequilibrio de ligamiento (LD- N_e) y exceso de heterocigotos (He- N_e), con sus intervalos de confianza al 95 % (IC 95 %), para la agrupación silvestre y las dos UMAs de <i>Totoaba macdonaldi</i>	35
Tabla 5. Valores de diferenciación genética (F_{ST}) por pares de localidades (triángulo inferior) y sus valores de significancia (p) correspondientes (triángulo superior) entre las cinco localidades silvestres de <i>Totoaba macdonaldi</i> , estimados a partir de 4,992 SNPs neutrales.	35
Tabla 6. Valores de diferenciación genética (F_{ST}) por pares de poblaciones (triángulo inferior) y sus valores de significancia (p) correspondientes (triángulo superior) entre la población silvestre y los reproductores de las UMAs CREMES y UABC de <i>Totoaba macdonaldi</i>	38

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMPure XP	Perlas magnéticas de purificación (Beckman Coulter)
BIC	Criterio de Información Bayesiano
CITES	Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres
CLUMPAK	Cluster Markov Packager Across K
COI	Citocromo c oxidasa subunidad I
CREMES	Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora
DAPC	Análisis Discriminante de Componentes Principales
ddRAD-seq	Secuenciación de ADN asociado a sitios de restricción de doble digestión
DGVS	Dirección General de Vida Silvestre
DOF	Diario Oficial de la Federación
DP	Profundidad de cobertura (read depth)
FDR	Tasa de descubrimientos falsos (False Discovery Rate)
F_{IS}	Coeficiente de endogamia
F_{ST}	Índice de fijación / diferenciación genética
H_E	Heterocigosidad esperada
H_O	Heterocigosidad observada
HWE	Equilibrio de Hardy-Weinberg
IC	Intervalo de confianza
IUCN	Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza
LD	Desequilibrio de ligamiento (Linkage Disequilibrium)
MAF	Frecuencia del alelo menor (Minor Allele Frequency)
MCMC	Cadena de Markov Monte Carlo
N_e	Tamaño efectivo poblacional
NOAA	Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (EE. UU.)
NOM	Norma Oficial Mexicana
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PIC	Contenido de información polimórfica
PIMVS	Predios o Instalaciones que Manejan Vida Silvestre
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SVM	Máquinas de soporte vectorial (Support Vector Machines)
SWFSC	Southwest Fisheries Science Center
UABC	Universidad Autónoma de Baja California
UMA	Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre
VCF	Formato de llamado de variantes (Variant Call Format)

°C	Grados Celsius
g	Gramos
h	Horas
kb	Kilobases
M	Molar
mM	Milimolar
min	Minutos
ml	Mililitros
ng	Nanogramos
ng/μl	Nanogramos por microlitro
pb	Pares de bases
μl	Microlitros
V	Voltios
X	Veces (profundidad de cobertura)
%	Por ciento

1. INTRODUCCIÓN

La genética de la conservación cumple un papel decisivo en la protección de las especies amenazadas, al aportar información clave sobre la salud y estructura genética de sus poblaciones, así como su capacidad de adaptación. El uso de marcadores genéticos, tanto en poblaciones silvestres como en cautiverio de especies no modelo, ha resultado esencial para evaluar la diversidad genética a largo plazo, describir la estructura genética poblacional, asignar individuos a su población de origen e identificar relaciones de parentesco (Holman *et al.*, 2017; May *et al.*, 2020; Allendorf *et al.*, 2022). Estas herramientas resultan especialmente críticas para las especies amenazadas cuyos organismos silvestres y de cultivo tienen estatus legales distintos, donde la trazabilidad a lo largo de la cadena de suministro es esencial para la aplicación de la ley y el combate a la pesca ilegal, no declarada y no reglamentada (Bernatchez *et al.*, 2017; Nielsen *et al.*, 2012; Ogden y Linacre, 2015).

El desarrollo de la secuenciación masiva y de los métodos de genotipificación de ADN asociada a sitios de restricción (RAD-seq), ha permitido descubrir y caracterizar el genotipo de miles de marcadores a lo largo del genoma en especies sin información genómica previa (Catchen *et al.*, 2013; Andrews *et al.*, 2016). Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) se han convertido en el estándar de la genómica de poblaciones; son abundantes, reproducibles y fáciles de estandarizar entre laboratorios (Bernatchez *et al.*, 2017), y proporcionan la resolución necesaria para detectar diferencias genéticas sutiles que los marcadores tradicionales no distinguen. Esta resolución resulta particularmente relevante para el estudio de especies marinas, en las cuales la ausencia de barreras físicas evidentes, los grandes tamaños efectivos poblacionales y el elevado flujo génico suelen generar bajos niveles de diferenciación genética entre poblaciones (Hauser y Carvalho, 2008; Allendorf *et al.*, 2022).

Estas herramientas genéticas son igualmente necesarias para evaluar a las poblaciones mantenidas en cautiverio. Los programas de cría con fines de repoblamiento suelen iniciar con un número reducido de reproductores y operar de manera cerrada, lo que los expone a la pérdida de diversidad por deriva, al aumento de la endogamia y a la diferenciación progresiva respecto a la población silvestre en pocas generaciones (Williams y Hoffman, 2009; Lorenzen *et al.*, 2012; Christie *et al.*, 2012). En este contexto, estimar la diversidad, el tamaño efectivo de las

poblaciones en cautiverio y reconstruir su pedigrí mediante el análisis de parentesco entre reproductores y descendientes permite vigilar su estado genético, planificar los entrecruzamientos y minimizar la endogamia (Frankham *et al.*, 2014).

A partir de un conjunto amplio de SNPs es posible, además, asignar individuos a su población de origen y diseñar paneles reducidos de unos pocos marcadores seleccionados para una función específica. Los loci muy diferenciados entre grupos permiten asignar el origen de un individuo, mientras que los loci de alta variabilidad permiten reconstruir relaciones de parentesco (Anderson y Garza, 2006; Anderson, 2010). Un panel reducido que combine ambos tipos de marcadores representa una herramienta de bajo costo y fácil estandarización con potencial para apoyar la trazabilidad genética y el manejo en cautiverio (Holman *et al.*, 2017; May *et al.*, 2020). No obstante, su aplicación en programas de trazabilidad y apoyo a la aplicación de la normativa requerirá validación adicional, incluyendo estudios Inter laboratorios, evaluación con muestras comerciales o degradadas, protocolos de cadena de custodia y la actualización de la línea base genética. Una vez cumplidos estos requisitos, podría contribuir a diferenciar organismos producidos legalmente de aquellos obtenidos mediante captura ilegal (Nielsen *et al.*, 2012; Ogden y Linacre, 2015).

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*) representa un caso de estudio particularmente pertinente para evaluar la aplicación de herramientas genómicas en conservación, manejo en cautiverio y trazabilidad, debido a la convergencia de factores biológicos, productivos y regulatorios que caracterizan a la especie. Es un pez de la familia Sciaenidae endémico del Golfo de California, catalogado en peligro de extinción tras décadas de sobreexplotación y, más recientemente, sujeto a una intensa pesca ilegal por el alto valor de su vejiga natatoria en los mercados asiáticos (Cisneros-Mata *et al.*, 1995, 2020; Curiel-Bernal *et al.*, 2021). Su aprovechamiento se regula a través de Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs), que mantienen reproductores en cautiverio para la producción comercial y el repoblamiento, bajo la normativa nacional y las restricciones de comercio internacional derivadas de su inclusión en la CITES (DOF, 2018). Los estudios genéticos previos, basados en microsatélites y ADN mitocondrial, describieron una población silvestre con altos valores de diversidad y sin estructura genética evidente (Valenzuela-Quíñonez *et al.*, 2015, 2016). Aunque existen antecedentes de caracterización genética de *Totoaba macdonaldi* mediante microsatélites, incluyendo análisis de organismos

silvestres y reproductores mantenidos en cautiverio, aún no se cuenta con una caracterización genómica integral basada en marcadores SNP que permita evaluar, bajo una misma plataforma, la diversidad genética, la estructura poblacional, el parentesco y el origen de individuos silvestres y cautivos. Asimismo, no se han desarrollado paneles reducidos de SNP orientados de manera conjunta a la reconstrucción del pedigrí y la trazabilidad, aprovechando las ventajas de estos marcadores en términos de densidad, reproducibilidad y estandarización.

El presente trabajo desarrolla y aplica herramientas genómicas basadas en SNPs, obtenidas mediante ddRAD-seq, para evaluar la diversidad y la estructura genética, las relaciones de parentesco y la trazabilidad entre individuos silvestres y de cultivo de *Totoaba macdonaldi* a lo largo de tres generaciones. Con base en la información generada se caracteriza la diversidad y la estructura genética de los grupos silvestres y cautivos, se evalúa el poder de asignación de origen de los marcadores, se caracteriza el pedigrí dentro de las UMAs participantes y se propone un panel reducido de SNPs de doble propósito para la trazabilidad y el parentesco de los organismos de cautiverio respecto a los silvestres, con el fin de fortalecer el manejo genético y la sostenibilidad de las UMAs.

2. ANTECEDENTES

2.1 Totoaba

2.1.1 Biología, distribución e historia pesquera

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*) (Fig. 1) es un pez endémico del Golfo de California que pertenece a la familia Sciaenidae, y constituye la especie de mayor tamaño y longevidad dentro de este grupo (Rodríguez-García *et al.*, 2020). Los organismos pueden alcanzar tallas cercanas a los dos metros de longitud total, pesos superiores a los 100 kg y edades de hasta 25 años, con reportes que sugieren longevidades aún mayores (Cisneros-Mata *et al.*, 1995, Rodríguez-García *et al.*, 2020). El tamaño del genoma de la especie se ha estimado en 0.80 pg por célula haploide (1.60 pg por célula diploide; del Mar Ochoa-Saloma *et al.*, 2020), lo que equivale aproximadamente a 782 Mpb (≈ 0.78 Gpb) considerando la conversión de 1 pg $\approx$ 978 Mpb (Doležal *et al.*, 2003). Este valor aporta una referencia para el diseño de estudios genéticos y genómicos en la especie.



Figura 1. Individuo de *Totoaba macdonaldi* adulto (Foto tomada por Dr. Juan Antonio de Anda).

La distribución reciente de *T. macdonaldi* abarca desde el delta del Río Colorado, en el extremo norte del Golfo de California, hasta Bahía de La Paz por la costa peninsular y hasta la región de Mazatlán por la costa continental mexicana (Rodríguez-García *et al.*, 2020). Su ciclo de vida combina zonas reproductivas en el Alto Golfo de California, particularmente en el área del Delta del Río Colorado, con desplazamientos posteriores de los adultos hacia aguas más profundas en la región de las Grandes Islas y la costa peninsular y continental. Los juveniles permanecen

aproximadamente dos años en el Alto Golfo antes de migrar hacia las zonas de alimentación al sur (Cisneros-Mata *et al.*, 1995).

Estudios sobre la biología reproductiva de la especie han descrito que la totoaba es iterópara y gonocórica, sin dimorfismo sexual aparente, con desarrollo ovárico asincrónico y patrones de desove parcial hembras, la madurez sexual se alcanza alrededor de los 5.5 a 7 años, con tallas promedio de primera madurez sexual de 135 cm en hembras y 129 cm en machos (Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2023). La mayor actividad reproductiva se registra entre febrero y mayo, y se ha reportado que hembras de 118 a 180 cm y 20 a 70 kg pueden producir entre 15.4 y 46.2 millones de huevos por año (Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2023). Los hábitos reproductivos gregarios y migratorios de la especie generan agregaciones predecibles en zonas y temporadas específicas, lo que la hace particularmente vulnerable a la sobrepesca (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). En el medio natural, los adultos son depredadores que se alimentan de una variedad de peces y crustáceos (Mroue-Ruiz *et al.*, 2023).

2.1.2 Estado de conservación, regulación y comercio ilegal

Históricamente, la totoaba sustentó una de las pesquerías de mayor importancia económica y social del Alto Golfo de California, jugando un papel relevante en el desarrollo de las comunidades pesqueras de la región y de la Reserva del Delta del Río Colorado (Cisneros-Mata *et al.*, 2020; Lercari y Chávez, 2007). Estudios paleontológicos y arqueológicos basados en otolitos recuperados de depósitos prehistóricos han documentado la captura de totoaba por las poblaciones indígenas del Alto Golfo desde hace al menos 5,700 años (Ainis *et al.*, 2021). Sin embargo, su explotación intensiva durante el siglo XX, la convirtió en uno de los principales casos de declive pesquero y, posteriormente, en uno de los íconos de conservación marina en México.

La pesquería comercial de totoaba alcanzó capturas máximas cercanas a las 2,300 toneladas en la década de 1940 y posteriormente declinó de manera sostenida hasta 280 toneladas en 1958 y 52 toneladas a inicios de la década de 1970, lo que provocó la imposición de una veda permanente en 1975 (Cisneros-Mata *et al.*, 2020). Además de la presión pesquera, los cambios ambientales asociados a la disminución del flujo de agua del Río Colorado hacia el Golfo de California, derivados de la construcción de represas, modificaron las condiciones de salinidad y la

geomorfología del estuario y del delta, alterando los hábitats de reproducción y crianza de la especie (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

Después de la veda, *T. macdonaldi* fue incluida en el Apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) en 1976 y en la *U.S. Endangered Species Act* en 1979. En México, la especie permanece protegida bajo la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF, 2010). En 2021, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) reclasificó a la especie de "en peligro crítico" a "vulnerable" (Cisneros-Mata *et al.*, 2021); no obstante, su comercio internacional continúa restringido por CITES y la especie sigue protegida por la legislación nacional.

Diversos estudios han aportado evidencia sobre el estado actual de la población silvestre, sin que exista un consenso. Por un lado, varios trabajos sugieren que la totoaba no constituye un recurso escaso, presenta parámetros demográficos relativamente estables y conserva niveles de diversidad genética relativamente altos (Cisneros-Mata *et al.*, 2020; Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023; Valenzuela-Quíñonez *et al.*, 2014, 2015). Estimaciones acústicas recientes calcularon biomasa de 50,296 toneladas en 2017 y 29,463 toneladas en 2018, principalmente frente a la costa de Sonora (Nevárez-Martínez *et al.*, 2024). Por otro lado, se ha documentado una baja resiliencia de la especie a la pesca y una capacidad de recuperación limitada (Márquez-Farías y Rosales-Juárez, 2013).

A pesar del marco regulatorio, la pesca ilegal dirigida a la totoaba se ha mantenido como una de las principales amenazas para la especie, impulsada por la alta demanda internacional de su vejiga natatoria en mercados asiáticos, donde se utiliza con fines gastronómicos y de medicina tradicional china (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). El precio de la vejiga natatoria seca (también conocida como "buche") ha alcanzado valores de hasta 16,000 USD por kilogramo, lo que ha incentivado el desarrollo de redes de tráfico ilegal vinculadas con el crimen organizado (Aceves-Bueno *et al.*, 2021; Cisneros-Mata *et al.*, 2020). Entre 2013 y 2020 se registraron aseguramientos correspondientes a más de 9,600 vejigas natatorias en distintos países, principalmente México, China, Hong Kong y Estados Unidos (Cisneros-Mata *et al.*, 2021).

2.1.3 Cría en cautiverio: Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs)

Como parte de las estrategias mexicanas para la conservación y aprovechamiento sustentable de especies en riesgo, la Dirección General de Vida Silvestre (DGVs) de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) implementó el esquema de Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs). Estas unidades son predios destinados de manera voluntaria por sus propietarios al manejo y aprovechamiento sustentable de las especies silvestres que las habitan, bajo regulación federal (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

Actualmente existen tres UMAs autorizadas para llevar a cabo la reproducción y crianza de totoaba con registro vigente ante la DGVs-SEMARNAT: (1) la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Universidad Autónoma de Baja California (UBP-UABC), localizada en Ensenada, Baja California, registrada en 2009; (2) el Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora del Instituto de Acuacultura del Estado de Sonora (CREMES-IAES), ubicado en Bahía Kino, Sonora, registrada en 2012; y (3) Earth Ocean Farms S. de R.L. de C.V. (EOF, actualmente Santomar®), con sede en La Paz, Baja California Sur, registrada en 2013. La UBP-UABC inició su programa de reproducción en cautiverio en 1994 y representa uno de los principales esfuerzos orientados a la recuperación de la especie, donde se logró por primera vez la reproducción controlada de la totoaba y se desarrolló la biotecnología para la producción de alevines con fines de suplementación poblacional (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

Únicamente las UMAs cuentan con autorización para la reproducción, mientras que la engorda comercial puede realizarse en UMAs o PIMVS (Predios o Instalaciones que Manejan Vida Silvestre) con autorización vigente, con la obligación de demostrar la procedencia legal de los organismos cosechados. Los reproductores cautivos en las UMAs se organizan en generaciones sucesivas: la generación F0 corresponde a individuos capturados del medio natural y utilizados como progenitores; la F1 está conformada por la descendencia obtenida a partir del entrecruzamiento de individuos F0; y la F2 corresponde a la descendencia derivada del entrecruzamiento de individuos F1 (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

Esta organización generacional define el estatus comercial de los organismos. La normativa mexicana permite la comercialización nacional de individuos de la primera generación cautiva (F1) y de generaciones posteriores, mientras que la comercialización internacional bajo el marco

de CITES queda restringida a individuos de segunda generación (F2). En marzo de 2022, EOF/Santomar® obtuvo el registro de su UMA ante CITES, lo que le permitió iniciar la comercialización internacional de filete de totoaba (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). Además de su función productiva, las UMAs participan en programas de liberación experimental de juveniles producidos en cautiverio, con más de 530,000 organismos liberados al medio natural entre 1997 y 2022 (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

El manejo genético de la producción en cautiverio se ha desarrollado en paralelo a la biotecnia de cultivo. Desde el inicio del programa de la UBP-UABC, los estudios de genética poblacional se incorporaron como herramienta para evaluar el estado de la especie y para diseñar el manejo reproductivo (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). En particular, se estableció la necesidad de conocer los niveles de diversidad genética de la población silvestre, el nivel de parentesco entre los reproductores cautivos y la representatividad de la diversidad silvestre en el lote parental. Con esta información se diseñaron planes de cruas orientados a reducir el riesgo de endogamia, se evaluó el desempeño de los reproductores silvestres y se conformó un banco de reserva de reproductores de primera generación (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). Para el seguimiento de las liberaciones experimentales se implementó inicialmente un sistema de marcaje físico con elastómero de cada alevín liberado; sin embargo, este sistema no produjo recapturas reportadas (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). Dado que los productos derivados de organismos cautivos y silvestres pueden ser físicamente indistinguibles, se requieren mecanismos de trazabilidad que permitan diferenciar el origen de los individuos, así como reconstruir su relación genealógica dentro de los programas de reproducción.

2.2 Herramientas genómicas para conservación, acuicultura y trazabilidad

2.2.1 Diversidad genética y tamaño efectivo en poblaciones manejadas

La diversidad genética constituye uno de los componentes centrales para evaluar el estado de conservación y el potencial evolutivo de las poblaciones naturales y manejadas (Allendorf *et al.*, 2022; Frankham *et al.*, 2014). En especies sujetas a explotación histórica, fragmentación demográfica o reproducción en cautiverio, los niveles de variación genética permiten inferir la capacidad de las poblaciones para responder a cambios ambientales, mantener su viabilidad a largo plazo y evitar los efectos negativos de la endogamia (Frankham, 1995). Indicadores como la

heterocigosidad observada (H_O), la heterocigosidad esperada (H_E), la riqueza alélica y el coeficiente de endogamia (F_{IS}) permiten describir la variación genética dentro de una población, mientras que las estimaciones de tamaño efectivo (N_e) proporcionan información sobre el número de individuos que contribuyen genéticamente a la siguiente generación (Do *et al.*, 2014; Waples, 2024).

En los programas de reproducción en cautiverio, estos indicadores adquieren particular relevancia debido a que el número censal de organismos no necesariamente refleja el número efectivo de reproductores. Una granja de cultivo puede mantener varios individuos adultos, pero si sólo unos pocos contribuyen de manera desproporcionada a la descendencia, se incrementan los efectos de la deriva genética, la pérdida de alelos raros y el parentesco entre organismos (Allendorf *et al.*, 2022; Frankham, 1995). La evaluación conjunta de la diversidad genética, el parentesco y el tamaño efectivo es utilizada para diseñar estrategias de manejo reproductivo que reducen la probabilidad de cruas endogámicas y mantienen la variabilidad genética disponible (Bernatchez *et al.*, 2017; Houston *et al.*, 2020). En el caso de especies de alto valor comercial y sujetas a programas de reproducción, como la totoaba, la estimación de estos parámetros resulta fundamental para evaluar, tanto el estado genético de la población silvestre como la condición genética de los lotes reproductores mantenidos en cautiverio.

2.2.2 Estructura poblacional y asignación de origen

La estructura poblacional describe la distribución de la variación genética entre grupos de individuos, localidades o poblaciones. Su evaluación permite determinar si una especie se comporta como una sola unidad genética (panmixia) o si existen grupos diferenciados que deben ser manejados de manera independiente (Allendorf *et al.*, 2022). En genética de poblaciones, el estadístico F_{ST} permite cuantificar el grado de diferenciación entre grupos (Weir y Cockerham, 1984), mientras que herramientas multivariadas como el Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC; Jombart *et al.*, 2010) y los métodos bayesianos de agrupamiento como STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000), son utilizados para visualizar patrones de similitud o diferenciación entre individuos e inferir el número de grupos genéticos (poblaciones) distintos.

Los marcadores genéticos también se utilizan para asignar individuos a su grupo de origen. Este enfoque se aplica en contextos de acuicultura, conservación y vigilancia, donde es necesario

diferenciar organismos silvestres de organismos producidos en cautiverio (Bernatchez *et al.*, 2017; Nielsen *et al.*, 2012). La asignación genética de origen se basa en la comparación de los genotipos individuales con una línea base de referencia compuesta por individuos de origen conocido. Los enfoques basados en aprendizaje automático, como los clasificadores de máquinas de soporte vectorial (SVM), entre otros, han sido incorporados en herramientas como assignPOP para la clasificación de individuos a partir de datos genómicos (Chen *et al.*, 2018).

La estimación de la precisión de asignación está sujeta a sesgos metodológicos que deben ser controlados. Factores como el parentesco entre individuos, el tamaño desigual de las muestras, la baja diferenciación genética entre grupos y la selección de loci altamente informativos sobre los mismos datos utilizados para evaluación pueden inflar artificialmente la precisión (Anderson, 2010; Waples, 2010).

2.2.3 Reconstrucción de parentesco y pedigrí

La reconstrucción de parentesco y pedigrí molecular es una herramienta utilizada en los programas de reproducción en cautiverio, particularmente cuando los registros reproductivos son incompletos o cuando los desoves ocurren de manera comunal (Vandeputte y Haffray, 2014; Yue y Xia, 2014). En estos casos, la identificación directa de los progenitores puede ser difícil o imposible mediante observación, por lo que los marcadores moleculares se utilizan para inferir relaciones de parentesco, asignar descendientes a padres candidatos y reconstruir familias de hermanos completos o medios hermanos (Huisman, 2017).

En acuicultura, el conocimiento del pedigrí se aplica al diseño de entrecruzamientos, a la reducción de la probabilidad de apareamientos entre individuos emparentados, al balanceo de la contribución reproductiva de las familias y al mantenimiento de la variabilidad genética entre generaciones (Houston *et al.*, 2020; Premachandra *et al.*, 2019). En programas con objetivos de conservación, la producción de organismos sin control del pedigrí puede comprometer la diversidad genética del *stock* reproductor e incrementar la endogamia en generaciones posteriores (Bernatchez *et al.*, 2017).

Programas como COLONY (Jones y Wang, 2010; Wang, 2012) permiten reconstruir pedigríes mediante modelos de máxima verosimilitud, incorporando información multilocus, sexo de los candidatos parentales, tasas de error de genotipificación y diferentes sistemas de apareamiento.

Este tipo de análisis permite asignar descendientes a padres conocidos, inferir padres no muestreados y agrupar individuos en familias (Huisman, 2017). La reconstrucción de pedigrí molecular aporta información sobre las relaciones familiares dentro de un programa de reproducción, mientras que la asignación de origen aporta información sobre la fuente poblacional de un individuo (Bernatchez *et al.*, 2017; Huisman, 2017).

2.2.4 Paneles reducidos de SNPs

Los conjuntos genómicos de miles de SNPs ofrecen alta resolución para caracterizar diversidad, estructura y parentesco, aunque su uso rutinario puede resultar costoso y poco práctico para laboratorios de monitoreo, unidades de producción y aplicaciones forenses (Boudry *et al.*, 2021; Kriaridou *et al.*, 2020). Una estrategia común en acuicultura y conservación consiste en reducir los conjuntos genómicos iniciales a paneles compactos de SNPs altamente informativos. Estos paneles conservan la mayor parte del poder analítico del conjunto genómico original, con menor costo, mayor facilidad de estandarización entre laboratorios y mayor potencial de implementación operativa (Flanagan y Jones, 2019; Holman *et al.*, 2017).

El diseño de paneles reducidos depende del objetivo del análisis. Para reconstrucción de pedigrí, los SNPs con alta frecuencia del alelo menor (MAF) son utilizados porque maximizan la heterocigosidad esperada y el poder de exclusión (Dussault y Boulding, 2018; Hauser *et al.*, 2011). Para asignación de origen o trazabilidad, los SNPs con alta diferenciación entre grupos (alto F_{ST}) son utilizados porque concentran las diferencias de frecuencia alélica entre poblaciones, criaderos o líneas de producción (Holman *et al.*, 2017; Nielsen *et al.*, 2012). Los criterios de selección de marcadores para pedigrí y trazabilidad no son equivalentes y deben definirse en función del objetivo analítico (Holman *et al.*, 2017; May *et al.*, 2020).

Los paneles de doble propósito combinan ambos criterios: marcadores de alta MAF orientados a maximizar la informatividad para pedigrí, con marcadores de alto F_{ST} orientados a maximizar la diferenciación entre grupos (Holman *et al.*, 2017; May *et al.*, 2020). Estudios desarrollados en especies acuícolas como el salmón Atlántico (*Salmo salar*; Holman *et al.*, 2017), la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*; Liu *et al.*, 2016), la corvina amarilla (*Larimichthys crocea*; Tong *et al.*, 2023), el camarón tigre (*Penaeus monodon*; Vu *et al.*, 2023), la lobina de Florida (*Micropterus floridanus*; Zhao *et al.*, 2018) y el salmón rojo (*Oncorhynchus nerka*; May *et al.*, 2020), han

demostrado que paneles de baja (<100 SNPs) o mediana (100-200 SNPs) densidad pueden alcanzar alta precisión en asignación parental y asignación poblacional cuando los marcadores son seleccionados adecuadamente. La mayor parte de estos desarrollos proviene de contextos de acuicultura y mejoramiento genético, y los paneles de doble propósito son comparativamente menos frecuentes debido al compromiso entre seleccionar marcadores de alta MAF para parentesco y de alto FST para diferenciación entre grupos (May et al., 2020); a la fecha no se ha diseñado un panel de esta naturaleza para *Totoaba macdonaldi* ni siquiera a nivel in silico.

El desempeño de un panel reducido depende del sistema biológico en el que se aplica. La variabilidad genética disponible, el grado de diferenciación entre grupos, el número de reproductores, la estructura familiar y la calidad de la línea base de referencia influyen sobre la precisión del panel (Anderson, 2010; Dussault y Boulding, 2018). Los paneles de SNPs deben ser diseñados y validados de manera específica para cada especie, población y programa de manejo (Holman et al., 2017).

2.3 Genética en totoaba

2.3.1 Estudios genéticos previos en totoaba

Los estudios genéticos previos en *Totoaba macdonaldi* han caracterizado la diversidad genética y la estructura poblacional de la especie principalmente mediante marcadores microsatélites y secuencias de ADN mitocondrial. García de León et al. (2010) desarrollaron 14 loci microsatélites para la especie y reportaron niveles moderados a altos de polimorfismo (H_o promedio = 0.67; H_E promedio = 0.69). Valenzuela-Quiñonez et al. (2014) emplearon 16 loci microsatélites para evaluar los efectos del colapso pesquero sobre la diversidad genética de la población silvestre y reportaron que no se detectó una reducción contemporánea medible en la diversidad genética, aunque el análisis genealógico de largo plazo sugirió una reducción del tamaño efectivo debido a eventos climáticos históricos.

Mediante el uso combinado de microsatélites y marcadores mitocondriales (16S, COI y región control), Valenzuela-Quiñonez et al. (2016) reportaron que la totoaba se comporta como una población panmíctica en el Golfo de California, con alta diversidad genética. Los estudios previos también han documentado signos de estabilidad demográfica y de recuperación de algunos atributos poblacionales tras décadas de protección legal (Valenzuela-Quiñonez et al., 2015),

aunque la población continúa sometida a la pesca ilegal dirigida (Aceves-Bueno *et al.*, 2021; Cisneros-Mata *et al.*, 2020).

En conjunto, los estudios genéticos previos han propuesto un patrón de panmixia para la población silvestre de totoaba (Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2016). La evaluación genómica conjunta de la relación genética entre la población silvestre y los lotes reproductores cautivos mantenidos en las diferentes UMAs, no ha sido abordada de manera integrada con marcadores SNP previo al presente estudio.

2.3.2 Herramientas genéticas existentes

La trazabilidad genética de *T. macdonaldi* se apoya en un sistema de 24 marcadores microsatélites establecido en el marco de la NOM-169-SEMARNAT-2018 (DOF, 2018; Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). Este panel se conformó a partir de la evaluación de 10 microsatélites específicos para totoaba y 40 microsatélites heterólogos diseñados para otras especies de la familia Sciaenidae; la selección final integró los marcadores con mejor desempeño en cuanto a reproducibilidad y polimorfismo (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). De los 24 microsatélites originales referenciados en la NOM-169-SEMARNAT-2018, actualmente 21 se mantienen en uso y tres han sido sustituidos por marcadores con mayor reproducibilidad y resolución analítica (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). Este sistema, implementado por el Laboratorio de Trazabilidad Genética de la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la UABC (UBP-UABC), se utiliza para los análisis de asignación parental, identificación de parentesco, estudios poblacionales y certificación del origen de organismos producidos en cautiverio (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

De manera complementaria, mediante una colaboración interinstitucional con el Southwest Fisheries Science Center (SWFSC) de la NOAA y el U.S. Fish and Wildlife Service, se desarrollaron dos paneles adicionales de alta resolución: un panel de 96 SNPs validado en la plataforma Fluidigm EP1 y un panel de 120 microhaplotipos (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). El panel de 96 SNPs fue seleccionado con base en la frecuencia del alelo menor ($MAF > 0.01$) y validado con un conjunto de muestras de referencia, mientras que el panel de microhaplotipos combina la información de múltiples SNPs ligados en el mismo locus para aumentar el poder analítico por marcador (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

Los SNPs presentan características analíticas particulares frente a los microsatélites, entre las que se encuentran menores tasas de mutación, menor tasa de error de genotipificación, mayor reproducibilidad entre laboratorios y mayor compatibilidad con plataformas de genotipificación automatizadas y de alta densidad (Flanagan y Jones, 2019; Wenne, 2023). El costo-beneficio relativo de microsatélites y SNPs, depende del número de muestras analizadas y de los objetivos del análisis: los paneles de microsatélites resultan una mejor relación costo-efectivo para volúmenes reducidos de muestras, mientras que los paneles de SNPs y microhaplotipos resultan más eficientes y a menor costo cuando se procesan volúmenes elevados de muestras de manera rutinaria (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023).

3. JUSTIFICACIÓN

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*) se encuentra sujeta simultáneamente a un programa legal de reproducción en cautiverio en UMAs autorizadas, y a una pesca ilegal persistente impulsada por el alto valor comercial de su vejiga natatoria, problemática vinculada con la captura incidental de la vaquita marina (*Phocoena sinus*) en redes agalleras. Dado que los productos derivados de organismos cautivos y silvestres pueden ser físicamente indistinguibles, la diferenciación objetiva de su origen depende de herramientas moleculares de trazabilidad, establecidas en el marco de la NOM-169-SEMARNAT-2018 mediante un sistema de 24 microsatélites.

A pesar de estos avances, persisten vacíos en la aplicación genómica de la trazabilidad y el manejo reproductivo de la totoaba. No se ha generado una línea base genómica de SNPs que integre, bajo un mismo marco analítico, individuos silvestres y reproductores cautivos de las distintas UMAs, lo que limita la comparación directa de su diversidad genética, estructura poblacional, parentesco y poder de asignación de origen. Asimismo, los conjuntos genómicos de miles de marcadores, útiles para descubrimiento, no resultan operativamente prácticos para el monitoreo rutinario, por lo que se requiere traducir esa información a paneles reducidos de SNPs costo-efectivos y estandarizables, considerando que los criterios para seleccionar marcadores con fines de reconstrucción de pedigrí y de asignación de origen no son equivalentes, y deben integrarse en un único panel de doble propósito.

Con este trabajo se pretende: 1) Generar una línea base genómica de SNPs que caracterice la diversidad genética, estructura poblacional, parentesco y tamaño efectivo de individuos silvestres y reproductores cautivos de totoaba bajo un mismo marco analítico; 2) Evaluar el poder de asignación de origen entre individuos silvestres y reproductores cautivos de las distintas UMAs; y 3) Diseñar y validar *in silico* un panel reducido de SNPs de doble propósito para la reconstrucción de pedigrí y la trazabilidad de la totoaba. De esta manera, se espera que los resultados obtenidos aporten una herramienta genética aplicada al manejo reproductivo, a la certificación del origen y al fortalecimiento de los sistemas de trazabilidad de la producción legal de la especie, complementando el marco regulatorio nacional (NOM-169-SEMARNAT-2018) y los compromisos internacionales de conservación (CITES Apéndice I).

4. HIPÓTESIS

Dado que las UMAs de *Totoaba macdonaldi* se establecieron a partir de un número limitado de reproductores y han operado de manera independiente, se espera que los reproductores cautivos presenten menores niveles de variabilidad genética, mayor parentesco interno y diferenciación genética respecto a la población silvestre y entre UMAs. Asimismo, se plantea que un panel reducido de SNPs, seleccionado con base en su poder informativo para parentesco y asignación de origen, será suficiente para reconstruir el pedigrí de los reproductores cautivos y discriminar el origen de los individuos con un desempeño comparable al conjunto genómico completo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Desarrollar y aplicar herramientas genómicas basadas en SNPs para evaluar la diversidad y estructura genética, las relaciones de parentesco y la trazabilidad entre grupos de individuos silvestres y de cultivo de *Totoaba macdonaldi*, con el fin de fortalecer el manejo genético y la sostenibilidad de las UMAs.

5.2 Objetivos particulares

1. Caracterizar la diversidad y estructura genética de totoaba silvestre y de cultivo.
2. Evaluar el poder de asignación de origen de los marcadores obtenidos.
3. Caracterizar el pedigrí dentro de las UMAs participantes.
4. Elaborar un panel de marcadores para trazabilidad y parentesco de organismos de cautiverio con respecto a organismos silvestres.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Muestreo

6.1.1 Área de estudio

El área de estudio comprendió el Golfo de California, México, dentro del rango de distribución natural de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) (Fig. 2). Para el muestreo silvestre se incluyeron cinco localidades distribuidas en el Alto Golfo y la costa de Sonora: Zona Núcleo (ZON), Roca Consag (ROC), San Luis Gonzaga (SLG), Desemboque (DES) y Bahía Lobos (BAL). Adicionalmente, se incluyeron dos UMAs: la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) y el Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES).

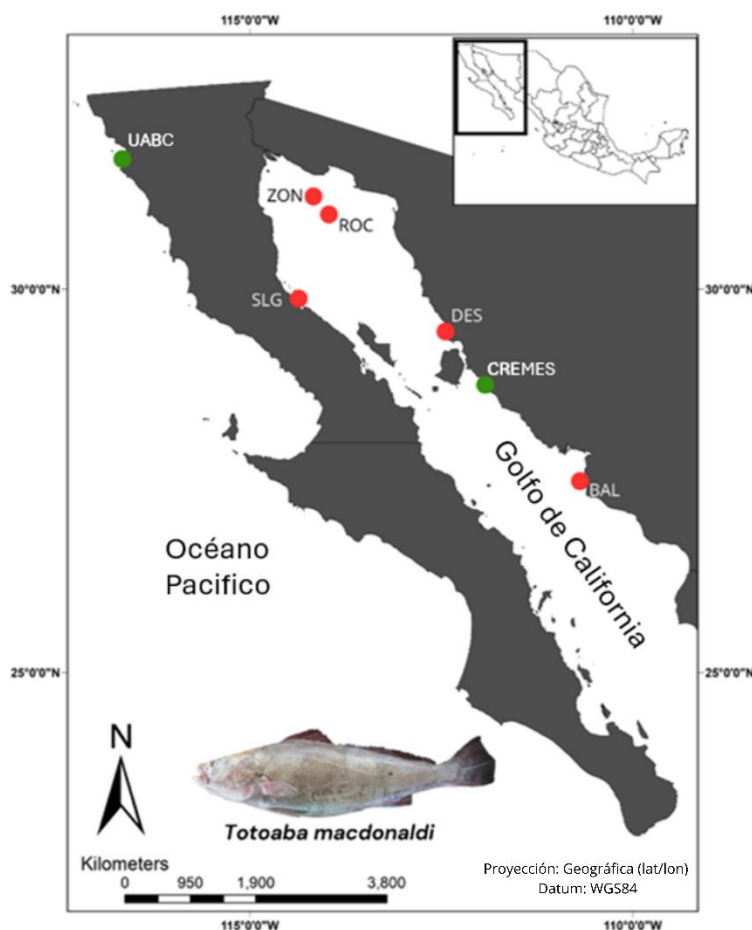


Figura 2. Mapa del área de estudio en el Golfo de California, indicando las localidades de muestreo silvestre (rojo) y la ubicación de las UMAs (verde). Zona Núcleo (ZON), Roca Consag (ROC), San Luis Gonzaga (SLG), Desemboque (DES) y Bahía Lobos (BAL). UMAs: la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) y el Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES). Fuente: INEGI, Marco Geoestadístico Nacional 2018.

6.1.2 Muestreo de individuos silvestres

Se procesaron 92 muestras de tejido muscular preservado en etanol, obtenidas de cinco localidades del Golfo de California entre los años 2010 y 2013: Bahía Lobos (BAL, n=11), Desemboque (DES, n=5), Roca Consag (ROC, n=5), San Luis Gonzaga (SLG, n=41) y Zona Núcleo (ZON, n=30) (Tabla 1). Los organismos fueron capturados con cañas y una red con luz de malla de 8 pulgadas, bajo los permisos SGPA/DGVS/02913/10, SGPA/DGVS/05508/11, SGPA/DGVS/00039/13 y SGPA/DGVS/00230/14, emitidos por la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS) de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), y con financiamiento del CONACYT (CB-2011-01; 165376).

6.1.3 Muestreo de reproductores cautivos en UMAs

Se procesaron 78 muestras de tejido de aleta preservado en etanol al 96%, obtenidas del lote total de reproductores existentes en dos UMAs autorizadas: CREMES, muestreada en 2021, y UABC, muestreada en 2022. En ambas UMAs, se incluyeron los individuos de tres generaciones consecutivas: F0, correspondiente a reproductores capturados del medio natural; F1, obtenida por cruzamiento de individuos F0; y F2, derivada del cruzamiento de individuos F1. En CREMES se procesaron 34 individuos (F0=9, F1=12, F2=13), mientras que en UABC se procesaron 44 individuos (F0=5, F1=10, F2=29), de los individuos F0 y F1 en ambas UMAs se contó con información adicional como el sexo el cual se muestra igualmente en la Tabla 1. Dado que se muestreó el lote completo de reproductores disponibles en cada UMA, los tamaños muestrales particularmente reducidos en las cohortes F0 reflejan el censo real de fundadores existentes y no una submuestra, por lo que representan el máximo de individuos analizables en cada unidad.

Tabla 1. Composición de las muestras analizadas de *Totoaba macdonaldi*. Se muestra número total de individuos colectados N, y el sexo de los individuos F0 y F1.

GRUPO	ORIGEN	ID	N	♂	♀
SILVESTRES	Bahía Lobos	BAL	11	—	—
	Desemboque	DES	5	—	—
	Roca Consag	ROC	5	—	—
	Sal Luis Gonzaga	SLG	41	—	—
	Zona nucleo	ZON	30	—	—
CREMES	Reproductores	F0	9	3	6
	Primera generación	F1	12	5	6
	Segunda generación	F2	13	—	—
	Reproductores	F0	5	3	2
UABC	Primera generación	F1	10	3	7
	Segunda generación	F2	29	—	—

6.2 Extracción de ADN genómico y preparación de bibliotecas ddRAD-seq

El ADN genómico se extrajo a partir del tejido preservado en etanol mediante el protocolo de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) descrito por Sambrook *et al.* (1989), con un tratamiento posterior con RNAasa (New England Biolabs, Ipswich, MA, EUA). La integridad del ADN se verificó por electroforesis en geles de agarosa al 1% (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). La concentración y pureza del ADN se determinó por fluorometría y espectrofotometría con un Qubit 2.0 (Life Technologies) y Nanodrop 2000, respectivamente. Todas las muestras se normalizaron a una concentración final de 50 ng μL^{-1} .

Las bibliotecas genómicas se prepararon mediante secuenciación de ADN asociada a sitios de restricción de doble digestión (ddRAD-seq), siguiendo el protocolo de Peterson *et al.* (2012) con modificaciones menores (ver Anexo A para protocolo completo). Por individuo se digirieron 500 ng de ADN genómico con las enzimas de restricción *EcoRI*-HF (sitio de reconocimiento: G'AATTC) y *MspI* (sitio de reconocimiento: C'CGG) (New England Biolabs, NEB®). A los extremos cohesivos resultantes se ligaron adaptadores P1 y P2 específicos por individuo, utilizando T4 ligasa (NEB®). El adaptador P1, que contenía un código de barras (*barcode*) específico por individuo, se ligó al sitio *EcoRI*, mientras que el adaptador P2, común a todas las muestras, se ligó al sitio *MspI*. La selección de tamaños de fragmento (200–400 pb), se realizó con un sistema Pippin Prep (Sage

Science). La biblioteca final, compuesta por 170 individuos, se secuenció en dos líneas de una plataforma Illumina HiSeq X (lecturas pareadas de 150 pb) en las instalaciones de Novogene (California, EUA).

6.3 Procesamiento bioinformático y filtrado de SNPs

6.3.1 Demultiplexado y control de calidad de secuencias crudas

Se evaluó la calidad de las lecturas crudas utilizando el programa FastQC (Andrews, 2010). Las secuencias crudas se separaron por muestra individual de acuerdo con sus códigos de barra (demultiplexado) y fueron filtradas con el módulo *process radtags* del programa STACKS v1.30 (Catchen *et al.*, 2013), descartando las lecturas con puntajes de calidad Phred inferiores a 30 (-q) y aquellas con códigos de barras ambiguos (-c).

6.3.2 Ensamblaje *de novo* de loci y descubrimiento de SNPs

Debido a la ausencia de un genoma de referencia para *T. macdonaldi*, los loci se ensamblaron *de novo* con el módulo *denovo_map.pl* del pipeline STACKS v1.30 (Catchen *et al.*, 2013). Los principales parámetros que conforman los módulos de STACKS, son: profundidad mínima de lectura para formar un *stack* de (-m), número máximo de diferencias entre loci dentro de un individuo de (-M), y número máximo de diferencias entre loci dentro del catálogo de (-n). Posteriormente, los loci fueron filtrados con el módulo *populations* de STACKS, el cual está regido principalmente por tres parámetros: el porcentaje mínimo de individuos en los que debe estar presente el loci (-r), número de poblaciones en las que el loci debe estar presente para ser tomado en cuenta (-p) y frecuencia del alelo menor (*min_maf*). Finalmente, se utilizó la opción *write_single_snp* para retener un único SNP por *stack*. Los valores utilizados para los parámetros -m, -M y -n, se seleccionaron derivados de un proceso de parametrización (Fig. 3 y Anexo B). Para evaluar la reproducibilidad del genotipado, se incluyeron 13 réplicas de muestra (individuos extraídos y secuenciados por duplicado) y se estimó el error de genotipificación como la proporción de genotipos discordantes entre réplicas.

Los genotipos se filtraron adicionalmente por profundidad mínima de cobertura (DP > 5) con el paquete *SNPfilter* de R (DeRaad, 2022). Los datos faltantes, se cuantificaron con VCFtools v3.0 (Danecek *et al.*, 2011), y se excluyeron de los análisis posteriores los loci e individuos con más del 10% de genotipos faltantes. Los archivos VCF resultantes, se convirtieron a los formatos

específicos requeridos por los programas posteriores con PGDSpider v2.1.1.5 (Lischer y Excoffier, 2012).

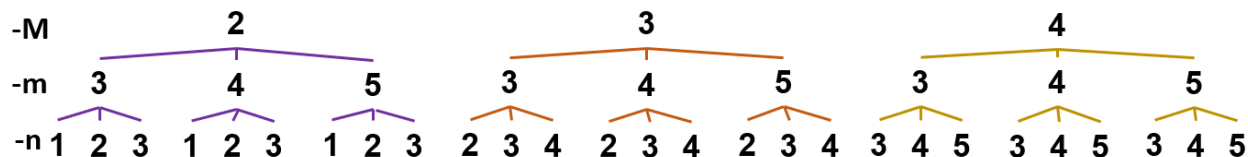


Figura 3. Diagrama de parametrización para seleccionar los valores de los principales parámetros de stacks.

6.3.3 Detección de loci candidatos a selección

Para identificar loci potencialmente bajo selección, se utilizaron dos métodos independientes. Primero, se aplicó BayeScan v3 (Foll y Gaggiotti, 2008), un método bayesiano basado en regresión logística, que separa los efectos locus-específicos asociados a selección de los efectos poblacionales-específicos asociados a la demografía. Se consideraron loci candidatos a selección divergente aquellos con valores de $q < 0.05$ (Foll, 2012); los análisis se ejecutaron con los parámetros por defecto: 50,000 iteraciones de *burn-in*, 20 corridas piloto de 5,000 iteraciones cada una y al menos 10,000 iteraciones para la corrida final. Segundo, se utilizó PCAdapt v4.3.3 (Luu *et al.*, 2017; Privé *et al.*, 2020), basado en análisis de componentes principales ($k = 2$) y detección de *outliers* a partir de valores p ajustados por FDR, con un umbral de $q = 0.05$.

6.3.4 Desequilibrio de ligamiento y equilibrio de Hardy-Weinberg

El desequilibrio de ligamiento entre pares de loci se estimó mediante el estadístico r^2 implementado en PLINK v1.90 (Purcell *et al.*, 2007), eliminándose uno de los loci de cada par con $r^2 > 0.25$. Las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg se evaluaron por separado para la población silvestre y para cada UMA (UABC y CREMES) utilizando GenoDive 3.05 (Meirmans, 2020), con 10,000 permutaciones y corrección de Bonferroni. Se excluyeron los loci que presentaron desviaciones significativas ($p < 0.05$) en cualquiera de los tres grupos. El conjunto resultante de SNPs neutrales se utilizó como base para todos los análisis subsecuentes.

6.4 Diversidad genética y tamaño efectivo poblacional

6.4.1 Métricas de diversidad genética

Los parámetros de diversidad genética se estimaron por grupo (silvestre, CREMES y UABC) a partir del conjunto neutral de SNPs. La heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e) y el coeficiente de endogamia de Fisher (F_{IS}) se calcularon con el paquete *adegenet* v2.1.1 (Jombart y Ahmed, 2011) en R. La riqueza alélica (A_r) se estimó con el paquete *hierfstat* v0.5-11 (Goudet, 2005), y el contenido informativo de polimorfismo (PIC) con el paquete *polysat* v1.7-7 (Clark y Jasieniuk, 2011). Las diferencias entre grupos en heterocigosidad, F_{IS} y riqueza alélica se evaluaron mediante pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, seguidas de pruebas *a posteriori* de Dunn-Bonferroni (Dunn, 1961) con los paquetes *stats* y *nparcomp* v3.0 (Konietschke *et al.*, 2015) en R v3.4.3 (R Core Team, 2014).

6.4.2 Tamaño efectivo poblacional (N_e)

El tamaño efectivo poblacional se estimó con NeEstimator v2.1 (Do *et al.*, 2014) bajo el modelo de apareamiento aleatorio, utilizando dos métodos: desequilibrio de ligamiento ($LD-N_e$) y exceso de heterocigosidad ($He-N_e$). Las estimaciones se obtuvieron para el grupo silvestre y para cada UMA por separado, aplicando un umbral crítico de frecuencia alélica de $P_{crit} = 0.05$. Debido a que los conjuntos de datos incluyeron cohortes solapadas, las estimaciones basadas en desequilibrio de ligamiento, se interpretaron con cautela como *proxies* del número efectivo de reproductores, y no como estimaciones estrictas del tamaño efectivo poblacional contemporáneo.

6.5 Estructura poblacional y parentesco

6.5.1 Diferenciación genética por pares (F_{ST})

La diferenciación genética entre grupos se evaluó mediante el estimador F_{ST} (Weir y Cockerham, 1984) en Arlequin v3.5 (Excoffier y Lischer, 2015). La significancia estadística se estimó con 10,000 permutaciones y se corrigió por comparaciones múltiples mediante la corrección secuencial de Bonferroni (Rice, 1989). El análisis se realizó en dos niveles: (i) únicamente entre las localidades silvestres, para evaluar la hipótesis de panmixia, y (ii) entre el grupo silvestre y los reproductores cautivos de las UMAs (CREMES y UABC).

6.5.2 Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC)

Se realizaron análisis discriminantes de componentes principales (DAPC; Jombart *et al.*, 2010) con el paquete *adegenet* v2.1.1 (Jombart y Ahmed, 2011) en R v4.2.1. El número óptimo de componentes principales a retener se determinó con la función *xvalDapc* mediante validación cruzada (100 réplicas), y el número óptimo de agrupamientos se evaluó con la función *find.clusters* bajo el criterio de información Bayesiano (BIC).

6.5.3 Análisis bayesiano de agrupamiento (STRUCTURE)

El número de poblaciones se infirió con el enfoque bayesiano de agrupamiento implementado en STRUCTURE v2.3 (Pritchard *et al.*, 2000). Los parámetros incluyeron valores de K (número de agrupamientos) de 1 a 5, con cinco repeticiones por valor, un periodo de *burn-in* de 10,000 iteraciones y 100,000 iteraciones posteriores de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC). El número más probable de agrupamientos se estimó con el método de Evanno *et al.* (2005), implementado en CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015), y los resultados se visualizaron con DISTRUCT v1.1 (Rosenberg, 2004).

6.5.4 Estimación de parentesco

El parentesco entre pares de individuos se estimó con el coeficiente phi (Φ) (Manichaikul *et al.*, 2010) mediante la opción *--relatedness2* de VCFtools v3.0 (Danecek *et al.*, 2011). Los valores de Φ se interpretaron con base en los valores esperados de parentesco: $\Phi \approx 0$ para individuos no emparentados, $\Phi \approx 0.0625$ para relaciones de tercer grado, $\Phi \approx 0.125$ para relaciones de segundo grado y $\Phi \approx 0.25$ para relaciones de primer grado, como padre-hijo o hermanos completos.

6.6 Asignación de origen con base de datos global

El desempeño de todos los marcadores que formaron la base neutral para la asignación de origen se evaluó con el paquete *assignPOP* v1.1.4 (Chen *et al.*, 2018) en R. Para reducir el sesgo por sobreestimación de marcadores altamente informativos (*high-grading bias*; Anderson, 2010), el programa divide a los individuos aleatoriamente en conjuntos de entrenamiento y prueba mediante un esquema de validación cruzada Monte Carlo implementado en la función *assign.MC*. Esta partición se realizó dentro de cada grupo poblacional, asegurando que todos los grupos

estuvieran representados en ambos conjuntos. Un subconjunto de individuos de cada grupo (silvestre, CREMES y UABC), se removió previamente del conjunto base para conformar un conjunto independiente de "origen desconocido", utilizado posteriormente para evaluar el desempeño del modelo.

Para evaluar el efecto del parentesco familiar sobre la precisión de la asignación, se realizó adicionalmente un segundo conjunto de análisis controlando por parentesco. Se identificaron individuos con parentesco de primer grado ($\phi = 0.125-0.25$) y se retuvo aleatoriamente un único representante por familia en el conjunto de entrenamiento; los individuos emparentados restantes se incorporaron al conjunto de "origen desconocido". Este filtrado se aplicó previo al procedimiento de re-muestreo para minimizar la no-independencia entre genotipos.

La precisión de asignación, se evaluó bajo dos esquemas de agrupamiento: (1) individuos silvestres contra todos los individuos de UMAs combinados, y (2) individuos silvestres contra cada UMA evaluada por separado (CREMES y UABC como grupos distintos). El procedimiento de validación cruzada Monte Carlo se repitió 100 veces por cada combinación de parámetros, utilizando tres subconjuntos de SNPs seleccionados por su valor de F_{ST} (10%, 50% y 100% de los loci) y dos proporciones de individuos de entrenamiento (0.8 y 0.9). Los modelos de clasificación se construyeron con un algoritmo de máquinas de soporte vectorial (SVM), seleccionado por su desempeño superior frente a otros clasificadores evaluados. La validación cruzada mediante re-muestreo permite construir conjuntos de entrenamiento con tamaños de muestra equivalentes entre poblaciones, reduciendo posibles sesgos asociados al desbalance muestral y proporcionando una evaluación objetiva de la precisión de asignación (Chen *et al.*, 2018). Los modelos predictivos se aplicaron al conjunto independiente de "origen desconocido" con la función *assign.X* para estimar las probabilidades de pertenencia individuales.

6.7 Diseño de paneles reducidos de SNPs

6.7.1 Paneles de pedigrí (selección por MAF)

Los paneles de pedigrí se conformaron seleccionando los loci con la frecuencia del alelo menor (MAF) más alta, criterio que maximiza la probabilidad de exclusión por locus y, con ello, el poder para resolver relaciones de parentesco. Se implementaron dos estrategias para la construcción de paneles de pedigrí. Primero, se desarrollaron paneles específicos por UMA (UABC y CREMES)

para determinar el número mínimo de SNPs requerido para la inferencia parental y de hermandad dentro de cada unidad. Para ello, la MAF de cada SNP se estimó por UMA con VCFtools (*--freq*); los loci se ordenaron en forma descendente por MAF y se construyeron paneles acumulativos de 40, 60, 80 y 100 SNPs a partir de los loci con mayor MAF.

Segundo, se desarrolló un panel considerando MAF compartido para aplicación simultánea en ambas UMAs. Los loci candidatos, se restringieron a los SNPs presentes en ambas UMAs con una $MAF \geq 0.30$ en cada una. Los loci se ordenaron mediante un criterio combinado que priorizó SNPs con valores de MAF altos y consistentes en ambas UMAs, excluyendo aquellos altamente informativos en una pero poco variables en la otra. Los loci se ordenaron en forma descendente y se construyeron paneles acumulativos de 40, 60, 80 y 100 SNPs y de igual manera se realizaron análisis de inferencia parental y de hermandad.

6.7.2 Paneles de trazabilidad (selección por F_{ST})

Para evaluar el poder de asignación de paneles reducidos, se aplicó un diseño de doble validación cruzada (Anderson, 2010; Waples, 2010), particionando el conjunto de datos en dos subconjuntos no traslapados: un subconjunto *hold-out* reservado exclusivamente para la priorización de marcadores (silvestre $n=39$, UABC $n=23$, CREMES $n=18$) y un subconjunto independiente de entrenamiento utilizado exclusivamente para la evaluación de la asignación (silvestre $n=30$, UABC $n=20$, CREMES $n=15$). Dentro de las UMAs, el submuestreo conservó las proporciones generacionales originales F0/F1/F2.

En el subconjunto *hold-out*, los loci se ordenaron por su contribución de F_{ST} a la diferenciación entre grupos, calculada con VCFtools v3.0 (Danecek *et al.*, 2011; Weir y Cockerham, 1984). Los paneles de trazabilidad se construyeron en cuatro tamaños: 50, 100, 150 y 200 SNPs, conservando los loci con mayor F_{ST} .

6.7.3 Panel combinado de doble propósito

Se construyó un panel combinado de doble propósito a partir del panel dual de pedigrí de 100 (Sección 6.7.1) de los SNPs presentes en ambas UMAs con una $MAF \geq 0.30$, y que mostraron las mayores probabilidades de inclusión y exclusión (ver resultados sección 7.7.2), más los 50 SNPs de mayor F_{ST} identificados en el paso de priorización con el subconjunto *hold-out* (Sección 6.7.2).

Previo a la fusión, ambos conjuntos se contrastaron para identificar loci compartidos; cualquier SNP presente en ambos, se conservó una sola vez y se contabilizó dentro del componente de pedigrí, preservando la arquitectura 100 + 50. El panel resultante de 150 SNPs integró marcadores optimizados con dos criterios complementarios: alta MAF para la resolución de relaciones familiares, y alta divergencia de frecuencias alélicas (F_{ST}) para la discriminación entre grupos de origen, en un único conjunto.

Adicionalmente, se construyó un panel de 200 SNPs (100 de pedigrí + 100 de F_{ST}) bajo el mismo procedimiento, con el fin de evaluar si el incremento del componente de trazabilidad más allá de 50 SNPs aportaba ganancias significativas en la precisión de asignación respecto al panel de 150 SNPs.

6.8 Reconstrucción de pedigrí con paneles reducidos

La reconstrucción de pedigrí, incluyendo la asignación parental y el agrupamiento por hermandad completa y media, se realizó por separado para cada UMA considerando los paneles específicos por UMA y considerando las dos UMAs simultáneamente (sección: 6.7.1). Esto se llevó a cabo con el programa COLONY v2.0.7.0 (Jones y Wang, 2010), bajo un modelo dioico y diploide. Los parámetros del análisis incluyeron información de sexo para los progenitores candidatos, poligamia en ambos sexos, ausencia de endogamia y ausencia de replicación clonal. Los análisis utilizaron el método de máxima verosimilitud (*full-likelihood*), se ejecutaron cinco corridas con longitud muy larga para evaluar la consistencia entre repeticiones. La estructura del pedigrí dentro de cada UMA se especificó conforme a los registros disponibles: los individuos F0 se asignaron como progenitores candidatos de F1, y los F1 como progenitores candidatos de F2. La probabilidad previa de que el progenitor verdadero estuviera incluido en la lista de candidatos se fijó en 0.80.

Los paneles reducidos se evaluaron contra el conjunto neutral completo, utilizado como la referencia genómica para la reconstrucción de pedigrí. Cuando al menos un progenitor fue muestreado y se conocía su identidad, la concordancia se calculó como la proporción de descendientes asignados al mismo progenitor que en la referencia. Cuando ningún progenitor estuvo muestreado, las etiquetas de progenitores *dummy* no pudieron compararse directamente entre corridas porque COLONY las asigna arbitrariamente, por lo que la concordancia se evaluó a nivel de agrupamiento de hermandad mediante un enfoque de mapeo óptimo: cada agrupamiento del panel reducido se equiparó con el agrupamiento de la referencia con mayor traslape de miembros, y los individuos cuya asignación difería bajo ese mapeo se clasificaron como mal asignados. Se declaró una falla estructural cuando todos los descendientes colapsaron en un único agrupamiento. La fiabilidad de las hermandades reconstruidas se evaluó adicionalmente con los estimadores Prob(Inc.) y Prob(Exc.) reportados en la salida *BestFSFamily* de COLONY.

6.9 Validación del panel combinado en asignación de origen

El desempeño del panel combinado de 150 SNPs para la asignación de origen se evaluó *in silico* mediante assignPOP v1.1.4 (Chen *et al.*, 2018), siguiendo el mismo protocolo descrito en la Sección 6.6: clasificador SVM, proporción de entrenamiento de 0.8 y 100 iteraciones por escenario. Se evaluaron dos esquemas de clasificación: 1) silvestre contra cautivo (combinando UABC y CREMES) y 2) silvestre, UABC y CREMES como tres grupos de origen independientes. El panel de 200 SNPs se analizó bajo los mismos parámetros para comparar su desempeño con el panel combinado de 150 SNPs y determinar si el incremento en el número de marcadores de trazabilidad mejoraba la precisión de asignación. Finalmente, la estructura poblacional recuperada por el panel combinado de 150 SNPs se visualizó mediante DAPC utilizando el paquete adegenet v2.1.1 (Jombart y Ahmed, 2011) en R, siguiendo los parámetros descritos en la Sección 6.5.2. La evaluación realizada corresponde a una validación *in silico* basada en el conjunto de datos generado en este estudio; por lo tanto, el panel se considera una herramienta candidata cuya implementación requerirá validación adicional en plataformas de genotipificación dirigida y con muestras independientes.

7. RESULTADOS

7.1 Preparación de bibliotecas genómicas y secuenciación.

Se obtuvo ADN genómico a partir de los 170 ejemplares de totoaba muestreados. En general, el ADN presentó alto peso molecular y buena integridad, sin evidencia de degradación apreciable en la electroforesis en gel de agarosa al 1% (Fig. 4), con una concentración promedio de 318.9 ng/ul.

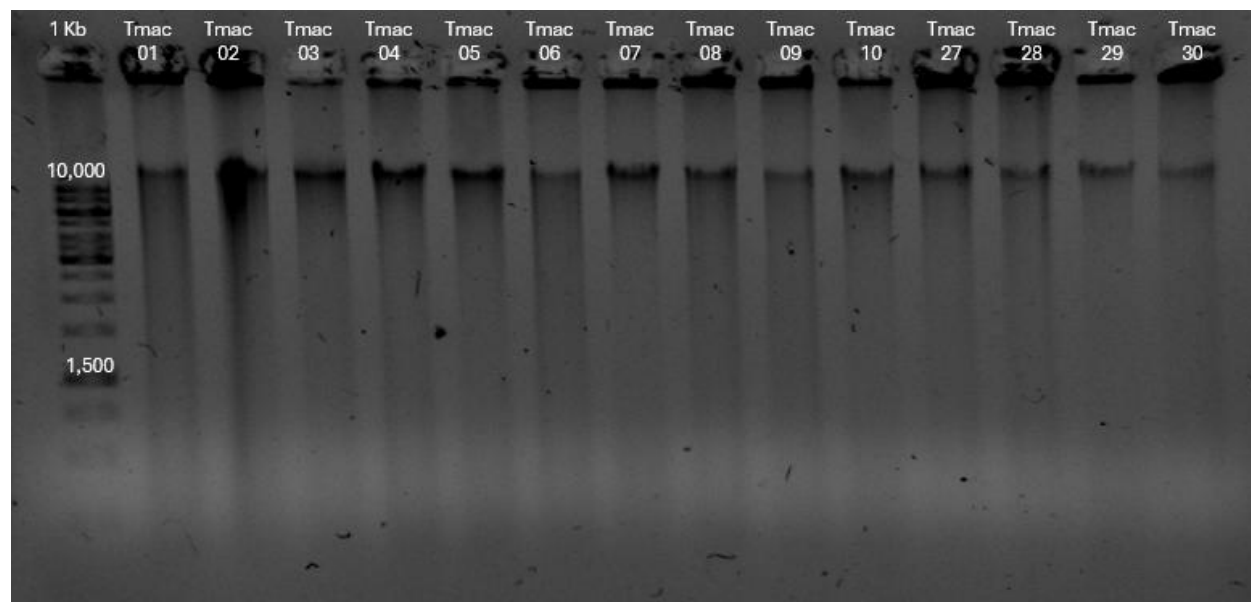


Figura 4. Gel de agarosa al 1 % del ADN genómico de individuos de *Totoaba macdonaldi*. Carril 1 corresponde a un marcador de peso molecular de 1 kb (Thermo Fisher Scientific®), los carriles 2 al 14 contienen muestras de ADN genómico con una concentración de 250 ng/μl.

A partir del ADN normalizado se construyeron las bibliotecas ddRAD-seq. Los 170 individuos se distribuyeron en cuatro pools: uno correspondiente a CREMES (n = 34), uno a UABC (n = 44) y dos a la población silvestre (n = 48 y n = 44), empleando códigos de barras únicos para la identificación individual de las muestras. El éxito de la digestión con EcoRI-HF y MspI y de la ligación de los adaptadores se verificó por un PCR1 comprobatorio y visualizado en electroforesis en gel de agarosa al 2%, donde se observó el barrido característico de los productos ligados (Fig. 5).

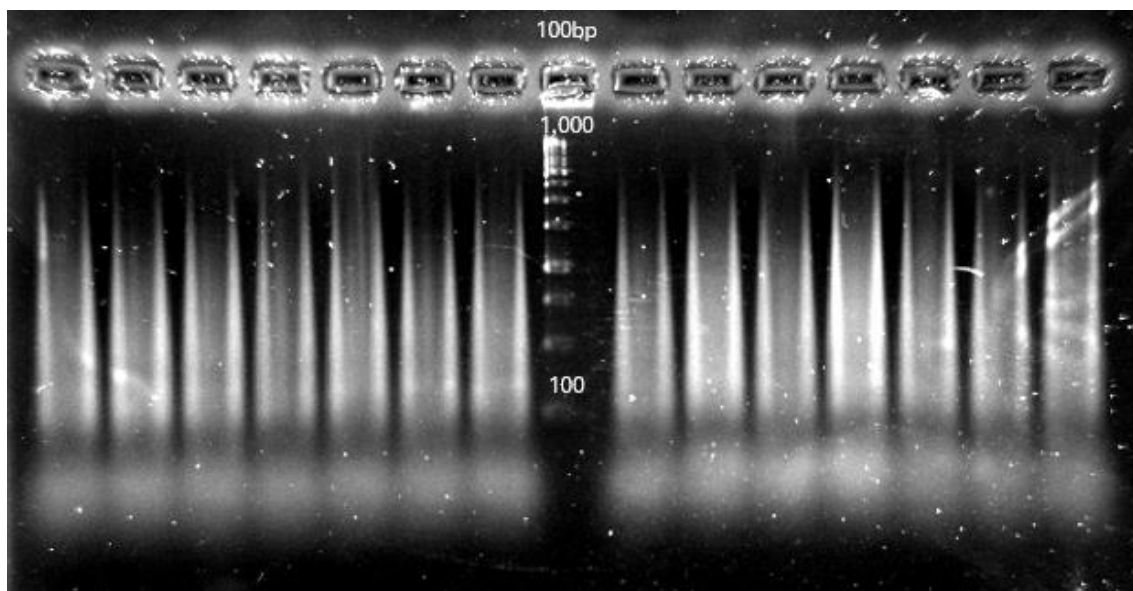


Figura 5. Productos de PCR de digestión y ligación de la biblioteca genómica verificados por electroforesis en gel de agarosa al 2%. Al centro se muestra escalera 100pb de Thermo Fisher Scientific®.

Tras la selección de tamaño de fragmento (200–400 pb) con el sistema Pippin Prep, se realizó un segundo PCR2 como paso para agregar los índices por cada pool y enriquecer las librerías, donde se observó una banda nítida por debajo de las 500 pb (Fig. 6) en geles de agarosa al 2%. La biblioteca final, integrada por los 170 individuos, se secuenció en dos carriles de una plataforma Illumina HiSeq X.

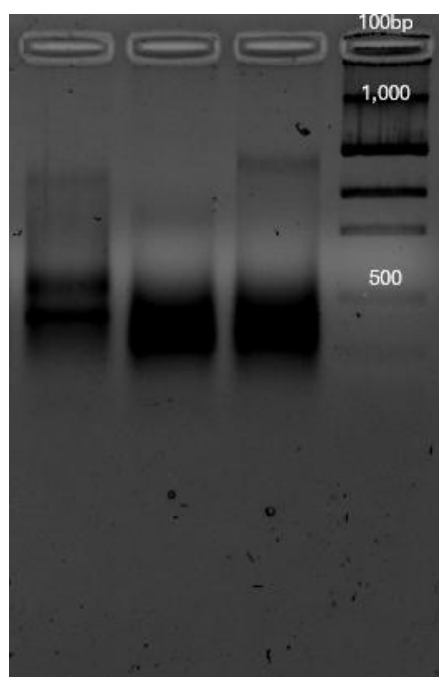


Figura 6. Gel de agarosa al 2 % utilizado para verificar la selección de tamaño de los pools equimolares después del proceso en Pippin Prep (punto de control final). Carril 1 muestra una selección de fragmentos inadecuada, los carriles 2 y 3 presentan la selección de tamaño esperada y el carril 4 corresponde a un marcador de peso molecular de 100 bp.

7.2 Procesamiento bioinformático y filtrado de SNPs

7.2.1 Demultiplexado y control de calidad de secuencias crudas

De las 1,733,678,472 lecturas crudas obtenidas en las dos líneas de secuenciación, 1,492,680,881 ($\approx 86\%$) superaron los criterios de calidad y demultiplexado aplicados con *process_radtags*. El número de lecturas por individuo difirió entre los tres grupos: la población silvestre tuvo un promedio de 5,169,950 lecturas por individuo (intervalo 1,478,627–11,473,269), CREMES 20,077,848 (13,392,090–38,229,983) y UABC 6,079,761 (3,818,487–9,905,426); siendo CREMES el grupo con mayor cobertura por individuo. En este paso se descartaron 8 individuos con menos de 1,000,000 de lecturas (6 silvestre, 1 de CREMES y 1 de UABC). El número de individuos retenidos por grupo, así como los descartados en cada paso del filtrado, se detallan en la Tabla 2.

7.2.2 Ensamblaje *de novo* de loci y descubrimiento de SNPs

El proceso de 27 pruebas de parametrización determinó como óptima la combinación de valores $-m = 4$, $-M = 3$ y $-n = 3$, que fue la que maximiza el número de SNPs recuperados (Fig. 3; Anexo B). Con estos parámetros, el ensamblaje *de novo* generó un catálogo inicial de 226,807 loci RAD,

equivalentes a 215,565 SNPs. Tras aplicar el módulo *populations* que implica la presencia del locus en al menos el 80% de los individuos por localidad ($-r$ 0.8), en el 100% de las localidades ($-p$ 3), y frecuencia mínima del alelo menor de ($-min_maf$ 0.05), el conjunto se redujo a 5,691 SNPs, con una profundidad promedio por locus de 90× (Tabla 2). Al comparar la similitud de genotipos de los 13 individuos con sus réplicas se obtuvo un error de genotipificación de 0.03%.

7.2.3 Filtrado final e individuos retenidos

Durante el control de calidad se descartaron 21 individuos en total, de los cuales 8 debido a su número de lecturas (< 1 M), uno por profundidad menor a 20× y 12 por tener más del 10% de datos faltantes. A nivel de marcadores, partiendo de los 5,691 SNPs, se eliminaron 20 loci por presentar más del 10% de datos faltantes, con lo que se retuvieron 5,671 SNPs. Los análisis de detección de loci bajo selección con BayeScan y PCAdapt no identificaron loci atípicos. Posteriormente, se removieron 417 SNPs por desequilibrio de ligamiento ($r^2 > 0.25$), quedando 5,254 SNPs, y 262 SNPs por desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg, con lo que se obtuvieron 4,992 SNPs. Finalmente, se descartaron 4 individuos silvestres que presentaron señales de parentesco no explicativa. El conjunto neutral final quedó conformado por 4,992 SNPs y 145 individuos, distribuidos en silvestres ($n = 69$), CREMES ($n = 33$) y UABC ($n = 43$) (Tabla 2). Las secuencias crudas por individuo se depositaron en GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) con el número de Bioproject PRJNA1234139 en el rango de números de acceso SRR32633787 al SRR32633944.

Tabla 2. Resumen del número de SNPs e individuos retenidos después de cada paso de filtrado, desde el catálogo *de novo* hasta el conjunto neutral final, para los tres grupos de individuos (Silvestre, CREMES y UABC) de *Totoaba macdonaldi*.

Paso de filtrado	SNPs	Individuos retenidos		
	retenidos	CREMES	UABC	Silvestres
Process_radtags (stacks)		34	44	92
denovo (stacks) -m = 3, -M = 4, -n=3	215,565	33	43	86
populations (stacks) -r= 80%, -p= 100%, -maf= 0.05)	5,691	-	-	85
Datos faltantes por loci <10%	5,671	-	-	-
Datos faltantes por individuo<10%	-	-	-	73
Desequilibrio de ligamiento	5,671	-	-	-
Hardy-Weinberg	5,254	-	-	-
Parentesco no explicable	4,992			69
Base global final	4,992	33	43	69

7.3 Diversidad genética y tamaño efectivo poblacional

7.3.1 Diversidad genética

La riqueza alélica (A_r) varió entre 1.81 y 1.96, con el valor más alto en la agrupación silvestre. La heterocigosidad observada (H_o) osciló entre 0.276 y 0.290, y la heterocigosidad esperada (H_e) entre 0.264 y 0.270 (Tabla 3). UABC presentó diferencias significativas en H_o y H_e ($p < 0.025$) respecto a los individuos silvestre y a CREMES (Anexo C). Los coeficientes de endogamia (F_{IS}) fueron negativos tanto en silvestres como en ambas UMAs.

Al desglosar la diversidad por cohorte generacional dentro de cada UMA, la riqueza alélica disminuyó de manera progresiva a lo largo de las generaciones en ambas unidades: en CREMES, de 1.76 en F0 a 1.60 en F1 y 1.65 en F2; en UABC, de 1.61 en F0 a 1.56 en F1 y 1.45 en F2. La heterocigosidad observada se mantuvo relativamente estable entre generaciones (H_o : 0.27–0.30), mientras que la heterocigosidad esperada mostró una tendencia descendente, particularmente marcada en UABC, donde pasó de 0.27 en F0 a 0.21 en F2. El único valor positivo de F_{IS} se registró en la cohorte F0 de CREMES (0.007) (Tabla 3).

El contenido de información polimórfica (PIC) de los SNPs varió entre 0.05 y 0.49, con un valor promedio de 0.25. Un total de 1,809 SNPs (36.2%) resultaron altamente polimórficos ($PIC > 0.30$), mientras que 304 SNPs (6.1%) presentaron valores inferiores a 0.10, indicativos de baja informatividad.

Tabla 3. Estadísticos de diversidad genética de *Totoaba macdonaldi* para la población silvestre y las UMAs CREMES y UABC. Para cada UMA se muestran los valores globales y los correspondientes a las cohortes generacionales F0, F1 y F2. Se presentan el número de individuos (N), la riqueza alélica (A_r), la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_E) y el coeficiente de endogamia (F_{IS}).

SITIO	COHORTE	N	A_r	H_o	H_E	F_{IS}
Silvestre	Silvestre	69	1.96	0.276	0.27	-0.01
	Global	33	1.91	0.29	0.264	-0.05
CREMES	F0	9	1.76	0.27	0.28	0.007
	F1	11	1.60	0.30	0.24	-0.201
	F2	13	1.65	0.30	0.25	-0.123
	Global	43	1.81	0.276	0.27	-0.073
UABC	F0	5	1.61	0.29	0.27	-0.087
	F1	10	1.56	0.30	0.25	-0.140
	F2	28	1.45	0.26	0.21	-0.176

7.3.2 Tamaño efectivo poblacional (N_e)

Las estimaciones del tamaño efectivo poblacional difirieron entre conjuntos (Tabla 4). Bajo el método de desequilibrio de ligamiento ($LD-N_e$), la agrupación silvestre presentó el valor más alto, 9,272.2 (IC 95%: 318.5–infinito), mientras que los reproductores cautivos mostraron valores bajos: 17.2 (IC 95%: 13.8–25.0) para UABC y 6.7 (IC 95%: 3.9–11.6) para CREMES. Bajo el método de exceso de heterocigotos ($He-N_e$), la agrupación silvestre arrojó un valor infinito (IC 95%: 461.7–infinito), en tanto que se obtuvieron valores finitos para las UMAs: 3.6 (IC 95%: 3.5–3.8) para UABC y 7.6 (IC 95%: 7.0–8.4) para CREMES.

Tabla 4. Tamaño efectivo poblacional (N_e) estimado mediante los métodos de desequilibrio de ligamiento ($LD-N_e$) y exceso de heterocigotos ($He-N_e$), con sus intervalos de confianza al 95 % (IC 95 %), para la agrupación silvestre y las dos UMAs de *Totoaba macdonaldi*.

Grupo	N	$LD-N_e$ (IC-95%)	$He-N_e$ (IC-95%)
Silvestre	69	9,272.2 (318.5-inf)	Infinito (461.7-inf)
UABC	43	17.2 (13.8-25.0)	3.6 (3.5-3.8)
CREMES	33	6.7 (3.9-11.6)	7.6 (7.0-8.4)

7.4 Estructura poblacional

7.4.1 Estructura entre localidades silvestres

Las tres aproximaciones empleadas coincidieron en la nula diferenciación genética entre las localidades silvestres. Los valores de F_{ST} por pares fueron bajos, en un intervalo de -0.01 a 0.0006 , y ninguno resultó significativo ($p > 0.05$) (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de diferenciación genética (F_{ST}) por pares de localidades (triángulo inferior) y sus valores de significancia (p) correspondientes (triángulo superior) entre las cinco localidades silvestres de *Totoaba macdonaldi*, estimados a partir de 4,992 SNPs neutrales. BAL = Bahía Lobos; DES = Desemboque; ROC = Roca Consag; SLG = San Luis Gonzaga; ZON = Zona Núcleo.

	BAL	DES	ROC	SLG	ZON
BAL	*	0.07	0.99	0.49	0.09
DES	-0.0025	*	0.89	0.90	0.67
ROC	-0.0068	-0.0109	*	0.25	0.95
SLG	-0.0006	-0.0048	-0.0121	*	0.54
ZON	0.0006	-0.0044	-0.0086	0.0006	*

En el análisis discriminante de componentes principales (DAPC) se retuvieron los primeros 30 componentes principales. El criterio de información bayesiana (BIC), aumentó conforme se incrementó el número de grupos evaluados y no presentó un mínimo definido (Fig. 7A), lo que indica la ausencia de una estructura poblacional discreta entre las localidades silvestres. Esta tendencia fue consistente con la distribución de los individuos a lo largo de la primera función discriminante (Fig. 7B) y con la gráfica de dispersión del DAPC (Fig. 7C), donde se observó un amplio traslape entre las cinco localidades de muestreo.

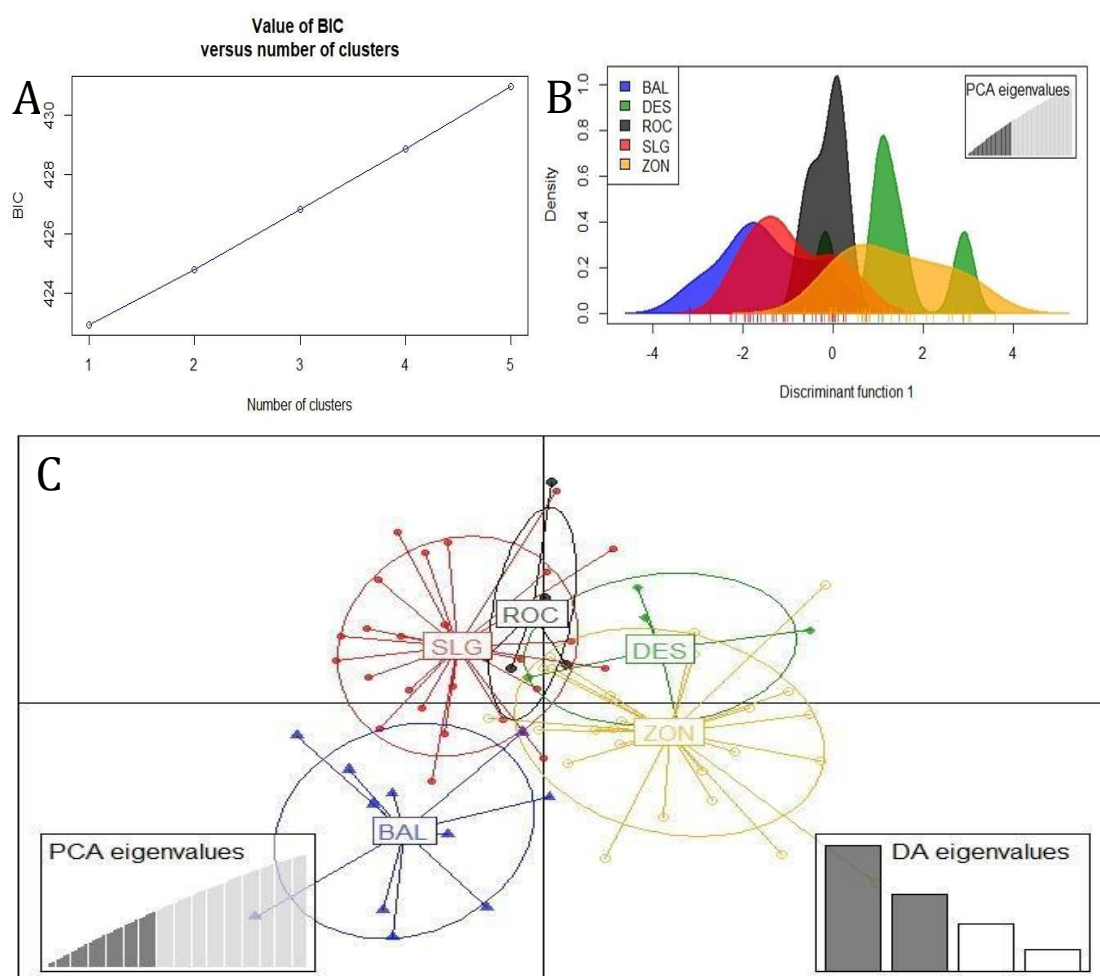


Figura 7. Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) de las cinco localidades silvestres de *Totoaba macdonaldi*. (A) Selección del número óptimo de grupos (K) mediante el Criterio de Información Bayesiana (BIC). (B) Distribución de las localidades con base en la primera función discriminante. (C) Gráfica de dispersión del DAPC utilizando 30 componentes principales retenidos. BAL = Bahía Lobos; DES = Desemboque; ROC = Roca Consag; SLG = San Luis Gonzaga; ZON = Zona Núcleo.

El análisis bayesiano de agrupamiento en STRUCTURE indicó que el valor más probable de $K = 2$ con base en el estadístico ΔK de Evanno; no obstante, la inspección de las gráficas de mezcla para $K = 2$ a $K = 5$ no reveló subdivisión (Fig. 8). Con base en estos resultados, las localidades silvestres se trataron como un único grupo en todos los análisis.

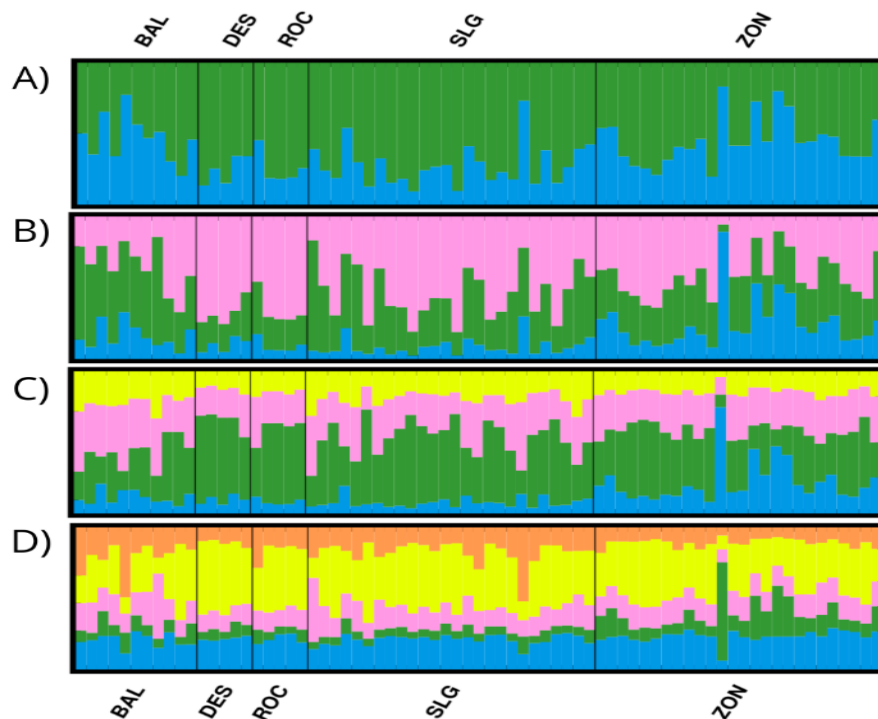


Figura 8. Análisis de agrupamiento individual realizado con el programa STRUCTURE para las cinco localidades silvestres de *Totoaba macdonaldi*: Bahía Lobos (BAL), Desemboque (DES), Roca Consag (ROC), San Luis Gonzaga (SLG) y Zona Núcleo (ZON). Cada panel representa una solución para un número de grupos genéticos (K) diferente: (A) $K = 2$, (B) $K = 3$, (C) $K = 4$ y (D) $K = 5$. Cada barra vertical representa un individuo y la proporción de cada color indica la probabilidad de asignación de ese individuo a cada uno de los grupos genéticos inferidos.

Debido a que no se pudo rechazar la hipótesis de panmixia entre las localidades de silvestres, todos los organismos silvestres fueron considerados como un solo grupo genético para los análisis posteriores.

7.4.2 Estructura entre la población silvestre y las UMAs

Se detectó diferenciación genética significativa entre la población silvestre y las UMAs. Los valores de F_{ST} por pares mostraron la mayor diferenciación entre UABC y CREMES ($F_{ST} = 0.14$; $p = 0.004$),

seguida de la observada entre UABC y la población silvestre ($F_{ST} = 0.10$; $p = 0.003$), y la menor entre CREMES y la población silvestre ($F_{ST} = 0.04$; $p = 0.002$) (Tabla 6).

Tabla 6. Valores de diferenciación genética (F_{ST}) por pares de poblaciones (triángulo inferior) y sus valores de significancia (p) correspondientes (triángulo superior) entre la población silvestre y los reproductores de las UMAs CREMES y UABC de *Totoaba macdonaldi*.

	UABC	CREMES	SILVESTRE
UABC	*	0.002	0.003
CREMES	0.140	*	0.004
SILVESTRE	0.103	0.040	*

En el DAPC se retuvieron los primeros 10 componentes principales, y el criterio BIC identificó tres agrupamientos correspondientes a UABC, CREMES y la población silvestre (Fig. 9A). Los individuos F0 de ambas UMAs se agruparon con la población silvestre, congruente con su origen de captura. El análisis con STRUCTURE indicó dos grupos ($K = 2$) como la partición más probable según ΔK , separando a UABC del resto (Fig. 9B); al explorar $K = 3$ se distinguieron los tres grupos con mezcla mínima, y los individuos dentro de las UMAs se alinearon nuevamente con su origen F0 (Fig. 9C).

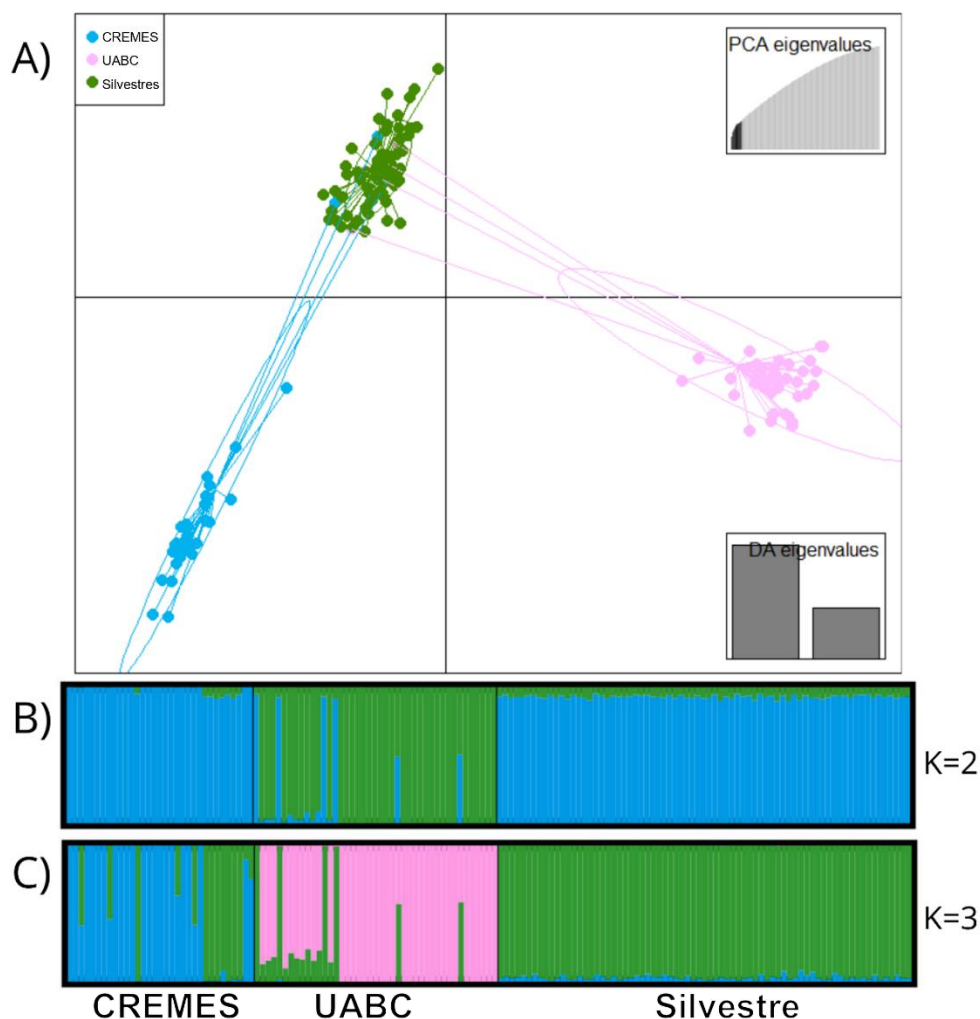


Figura 9. Estructura genómica poblacional de la población silvestre y los reproductores de las UMAs CREMES y UABC de *Totoaba macdonaldi*. (A) Gráfico de dispersión del Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC). (B) Asignación de individuos mediante STRUCTURE para K = 2. (C) Asignación de individuos mediante STRUCTURE para K = 3. Cada barra vertical representa un individuo y la proporción de cada color corresponde a su coeficiente de pertenencia (Q) a los grupos genéticos inferidos.

7.4.3 Estimación de parentesco

El análisis de parentesco no detectó individuos emparentados dentro de la población silvestre (Fig. 10A), lo que es congruente con su origen de captura en el medio natural. En contraste, las UMAs mostraron un grado de parentesco elevado, acorde con su estructura familiar.

En CREMES, 29 de los 33 individuos (88%) presentaron al menos una relación de primer grado; los cuatro individuos no relacionados detectados corresponden a reproductores fundadores F0, de origen silvestre. El parentesco promedio entre pares fue moderado (ϕ medio = 0.071) (Fig.

10B). En UABC el parentesco fue mayor y más concentrado con 39 de los 43 individuos (91%) presentaron al menos una relación familiar de primer grado (Fig. 10C), y los cuatro sin relación familiar correspondieron a las generaciones fundadoras (F0 y F1). A diferencia de CREMES, las relaciones de primer grado conectaron a 37 de los 43 individuos en un solo grupo de parentesco, lo que refleja el predominio de una única familia entre los individuos F2 (sección 7.7). El parentesco promedio entre pares fue cercano al doble del observado en CREMES (ϕ medio = 0.139).

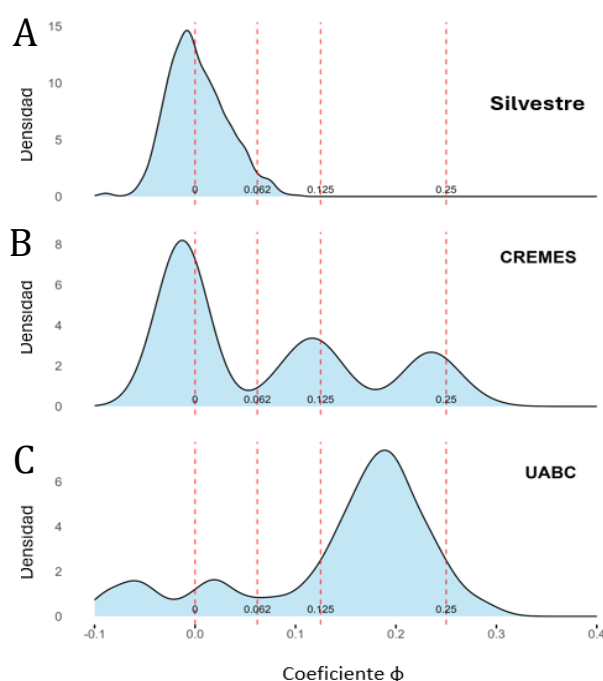


Figura 10. Distribución de los coeficientes de parentesco por pares (Φ) para la población silvestre (A) y las UMAs de CREMES (B) y UABC (C) de *Totoaba macdonaldi*. Las líneas verticales discontinuas indican los valores de referencia utilizados para inferir el grado de parentesco: $\Phi = 0$ (individuos no emparentados), $\Phi = 0.0625$ (tercer grado), $\Phi = 0.125$ (segundo grado) y $\Phi = 0.25$ (hermanos completos o relaciones de primer grado).

7.5 Asignación de origen con base de datos global

7.5.1 Población silvestre contra UMAs combinadas

Las precisiones globales de asignación entre la población silvestre y las UMAs combinados fueron altas (> 89%) en los tres subconjuntos de loci de mayor F_{ST} (100%, 50% y 10%) y con una proporción de 0.8 individuos para el entrenamiento del modelo. Las precisiones de asignación no variaron sustancialmente entre las proporciones de 0.8 y 0.9 de individuos, pero se

incrementaron con la proporción de loci empleados (Fig. 11). Para las UMAs, las precisiones de asignación variaron entre 84% (DE 0.10) y 88% (DE 0.08) usando el 10% y el 100% de los loci de mayor F_{ST} , respectivamente. Los individuos silvestres mostraron precisiones más altas, entre 94% (DE 0.07) con el 10% de los loci y 100% (DE 0.01) con el 50% superior. Al controlar por parentesco, conservando un solo hermano por familia, las precisiones globales se mantuvieron prácticamente sin cambio (> 86%); las de los cautivos disminuyeron a un intervalo de 58% (DE 0.17) a 72% (DE 0.23), con mayor varianza, mientras que las de los silvestres permanecieron en 100% (Anexo D).

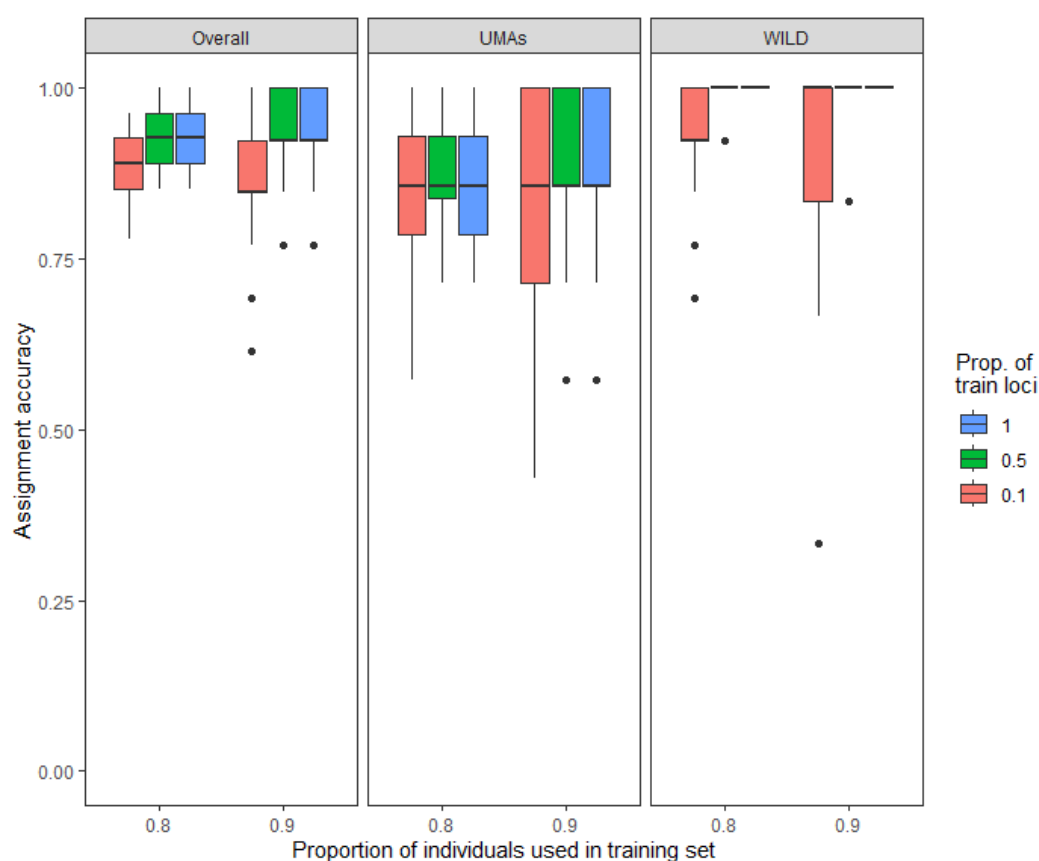


Figura 11. Precisión de asignación de individuos mediante máquinas de soporte vectorial (SVM) estimada por validación cruzada de Monte Carlo. Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.8 y 0.9) y tres proporciones de loci de entrenamiento correspondientes al 10 %, 50 % y 100 % de los SNPs con mayor diferenciación genética (F_{ST}). Los resultados se presentan para tres escenarios: 1) Global, utilizando todos los individuos; 2) UMAs, considerando únicamente los reproductores de las UMAs CREMES y UABC; y 3) Silvestre, considerando únicamente los individuos de la población silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.

7.5.2 Población silvestre contra UMAs individuales

Al evaluar por separado a cada UMA frente a la población silvestre, las precisiones de asignación globales se mantuvieron altas (> 91%) para todas las proporciones de loci e individuos. CREMES presentaron las precisiones más bajas, entre 74% (DE 0.17) y 80% (DE 0.15); los de UABC alcanzaron 90% (DE 0.09) en todas las proporciones, y los individuos silvestres se asignaron con 100% (DE 0.00) de precisión (Fig. 12). Al controlar por parentesco, las precisiones globales se mantuvieron > 90% (DE 0.05); ambas UMAs mostraron reducciones a valores moderados, de 41% (DE 0.26) a 72% (DE 0.30) para CREMES y de 43% (DE 0.50) a 64% (DE 0.35) para UABC, en tanto que la población silvestre conservó el 100% de precisión (Anexo D).

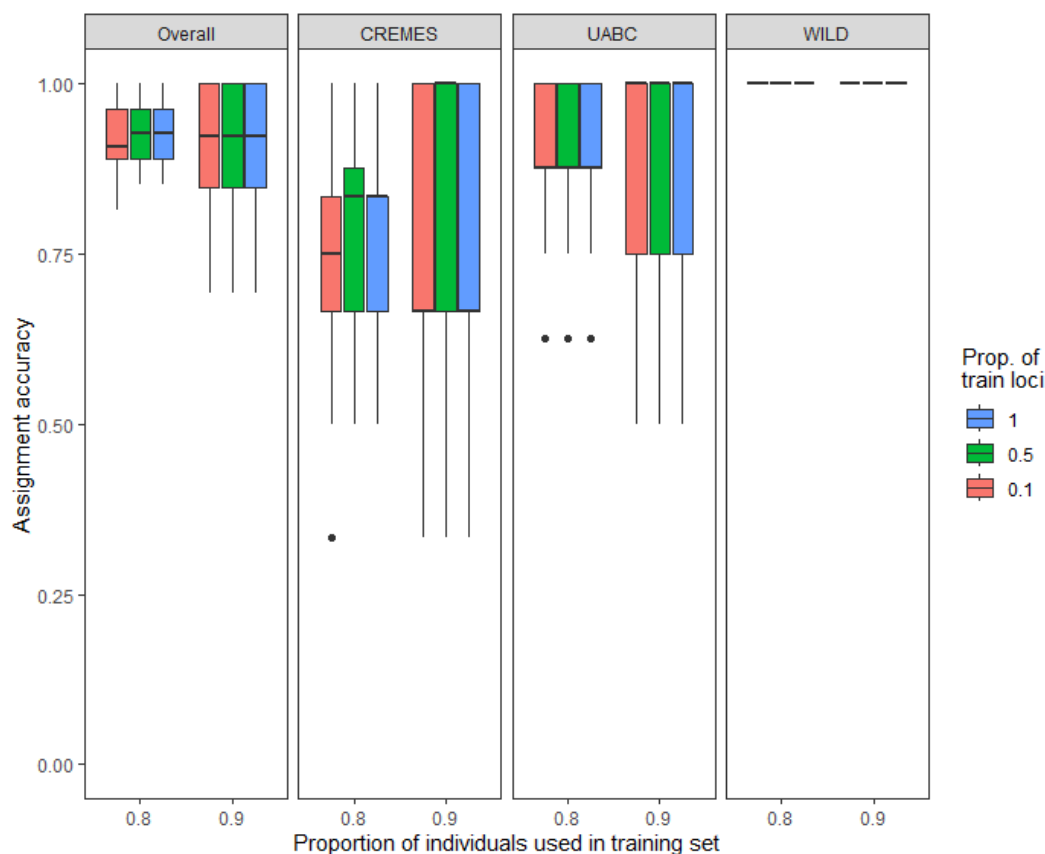


Figura 12. Precisión de asignación de individuos mediante máquinas de soporte vectorial (SVM) estimada por validación cruzada de Monte Carlo. Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.8 y 0.9) y tres proporciones de loci de entrenamiento correspondientes al 10 %, 50 % y 100 % de los SNPs con mayor diferenciación genética (F_{ST}). Los resultados se presentan para cuatro escenarios: Global, utilizando todos los individuos; CREMES, y Silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.

7.5.3 Probabilidades de asignación al conjunto de origen desconocido

Las probabilidades de asignación promedio de los individuos de origen desconocido fueron altas en ambos esquemas. En la comparación con las UMAs combinadas, se obtuvo una probabilidad de 99% para los individuos en cautiverio y de 88% para los silvestres (Fig. 13A). Al separar las UMAs, las probabilidades fueron de 95% para CREMES, 96% para UABC y 85% para los silvestres (Fig. 13B). El control por parentesco tuvo un efecto mínimo: en la comparación combinada, las probabilidades fueron de 84% para los silvestres y 99% para los cautivos, y en la comparación por UMA separada, de 95% para CREMES, 98% para UABC y 85% para los silvestres (Anexo D).

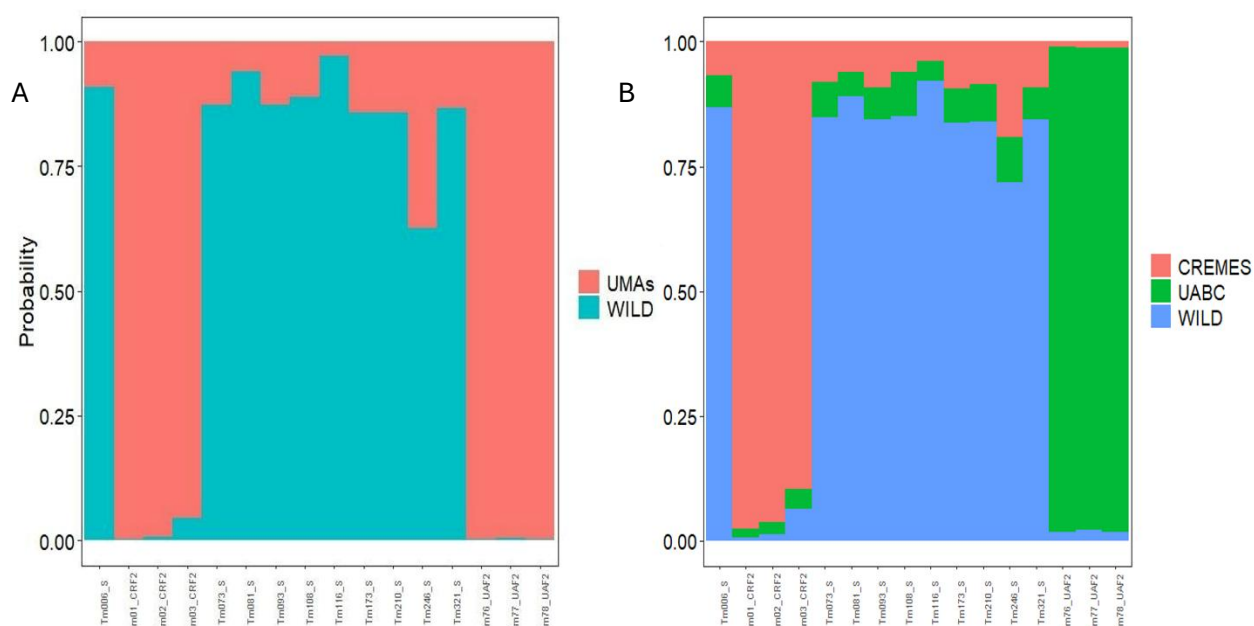


Figura 13. Probabilidades de asignación de los individuos de origen desconocido obtenidas mediante máquinas de soporte vectorial (SVM). (A) Asignación considerando un modelo que agrupa las UMAs CREMES y UABC en una sola (UMAs) frente a la población silvestre. (B) Asignación considerando un modelo que evalúa por separado a CREMES, UABC y la población silvestre. Cada barra representa un individuo de origen desconocido y los colores indican la probabilidad de pertenencia a cada grupo de referencia.

7.6 Diseño de paneles reducidos de SNPs

7.6.1 Paneles de pedigrí (selección por MAF)

Se construyeron tres paneles: uno específico para CREMES, uno específico para UABC y considerando las frecuencias alélicas aplicable a ambas unidades, todos ensamblados de forma acumulativa y anidada en tamaños de 40, 60, 80 y 100 SNPs, de modo que cada panel está

contenido en el de mayor tamaño. Los paneles específicos por UMA se integraron con los loci de mayor MAF dentro de cada unidad.

En CREMES, los paneles presentaron una MAF promedio de 0.485 (intervalo 0.469–0.500), y en UABC de 0.492 (intervalo 0.476–0.500); en ambos casos los valores se aproximaron al máximo teórico para marcadores bialélicos, lo que indica que los loci seleccionados son altamente informativos para la asignación de parentesco dentro de cada plantel.

Los paneles considerando ambas UMAs presentaron valores de MAF promedio ligeramente menores que los específicos por UMA; en el tamaño de 100 SNPs, la MAF promedio fue de 0.438 en CREMES y de 0.450 en UABC. Aunque estos valores son ligeramente menores que los de los paneles específicos por UMA, siguen cercanos al máximo teórico y confirman un poder discriminante alto en las dos UMAs. La distribución de los valores de MAF en el conjunto neutral y la posición de los loci seleccionados se muestran en la Fig. 14.

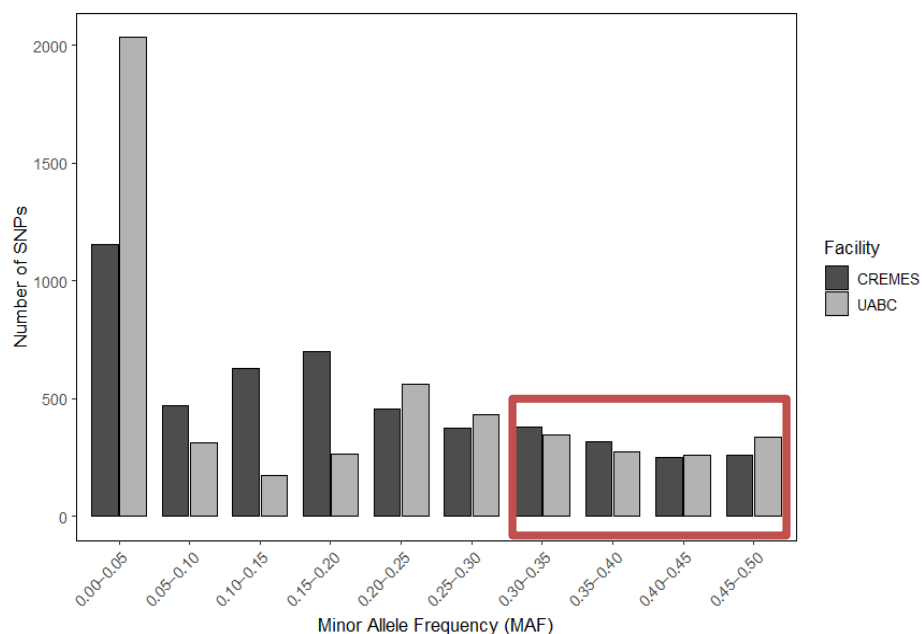


Figura 14. Distribución de la frecuencia del alelo menor (MAF) del conjunto neutral de 4,992 SNPs en los reproductores de las UMAs CREMES y UABC de *Totoaba macdonaldi*. El recuadro rojo indica el rango de MAF (0.30–0.50) del cual se seleccionaron los SNPs empleados en la construcción de los paneles para reconstrucción de pedigrí.

7.6.2 Paneles de trazabilidad (selección por F_{ST})

Los paneles de trazabilidad se conformaron de manera independiente a los anteriores seleccionando los loci de mayor F_{ST} por locus de forma acumulativa y anidada, estimado en el subconjunto independiente reservado para la priorización de marcadores (*hold-out*). El F_{ST} por locus varió desde 0.28 hasta 0.50 a lo largo del conjunto base, y los loci de mayor F_{ST} concentraron la mayor divergencia de frecuencias alélicas entre los tres grupos de origen. Como se esperaba, los loci de alto F_{ST} presentaron valores de MAF más variables que los marcadores de los paneles de pedigrí, lo que reflejó el objetivo entre maximizar la divergencia entre grupos y mantener la heterocigosidad dentro de los grupos (Fig. 15).

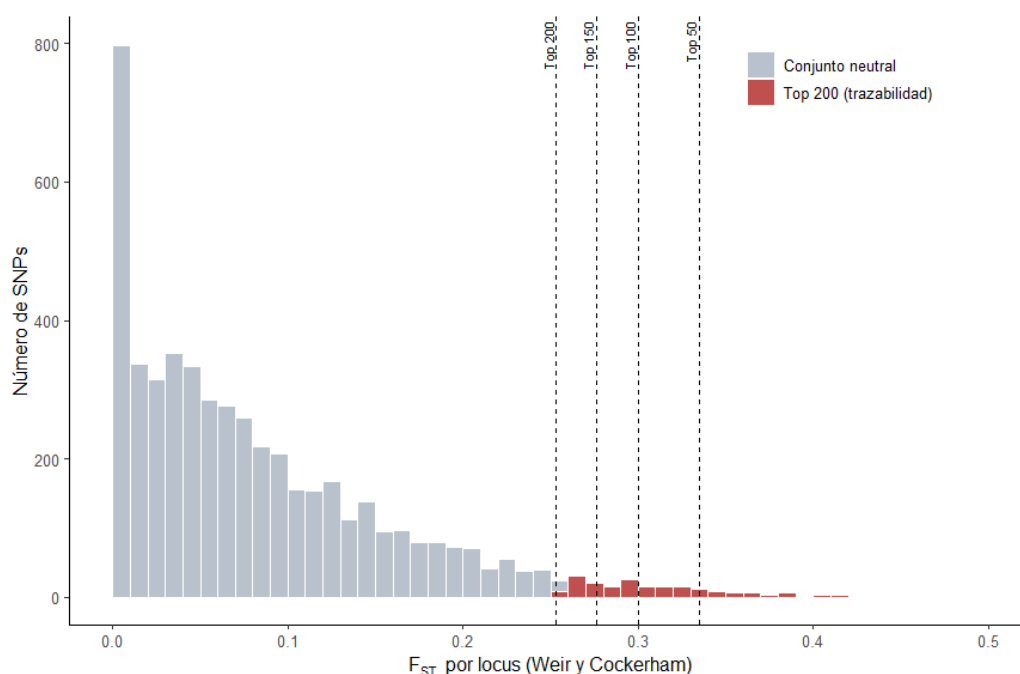


Figura 15. Distribución de los valores de diferenciación genética (F_{ST}) por locus (Weir y Cockerham) en el subconjunto de priorización (*hold-out*) de *Totoaba macdonaldi*. Las barras grises representan el conjunto neutral de SNPs, mientras que las barras rojas corresponden a los 200 SNPs con mayor F_{ST} priorizados para el desarrollo de los paneles de trazabilidad. Las líneas verticales discontinuas indican los valores de corte correspondientes a los paneles de 50, 100, 150 y 200 SNPs.

7.7 Reconstrucción de pedigrí con paneles reducidos

7.7.1 Desempeño de los paneles independientes específicos por UMA

El desempeño de los paneles de pedigrí específicos por UMA se evaluó mediante dos indicadores: la concordancia de las asignaciones respecto al conjunto de referencia de 4,992 SNPs y el número de familias recuperadas (Fig. 16). En CREMES, la concordancia de la transición F0→F1 aumentó de 81.8% con 40 SNPs a 90.9% con 60 SNPs, y alcanzó el 100% con 80 y 100 SNPs; la transición F1→F2 fue de 76.9% con 40 SNPs, 84.6% con 60 SNPs, 92.3% con 80 SNPs y 100% con 100 SNPs. En UABC, la transición F0→F1 alcanzó 100% de concordancia en todos los tamaños de panel, y la transición F1→F2 fue de 100% con 40 SNPs, 92.9% con 60 SNPs y 100% con 80 y 100 SNPs.

El número de familias recuperadas converge al valor de la referencia conforme aumentó el tamaño del panel. En las transiciones F1→F2, los paneles más pequeños colapsaron a todos los descendientes en una sola familia: en UABC con 40 SNPs y en CREMES con 60 SNPs, donde el número de familias recuperadas cayó a uno. A partir de 100 SNPs, ambas unidades recuperaron el número de familias de referencia (cuatro y tres en CREMES para F0→F1 y F1→F2; tres y dos en UABC). Los valores individuales de parentesco se pueden consultar en el Anexo E.

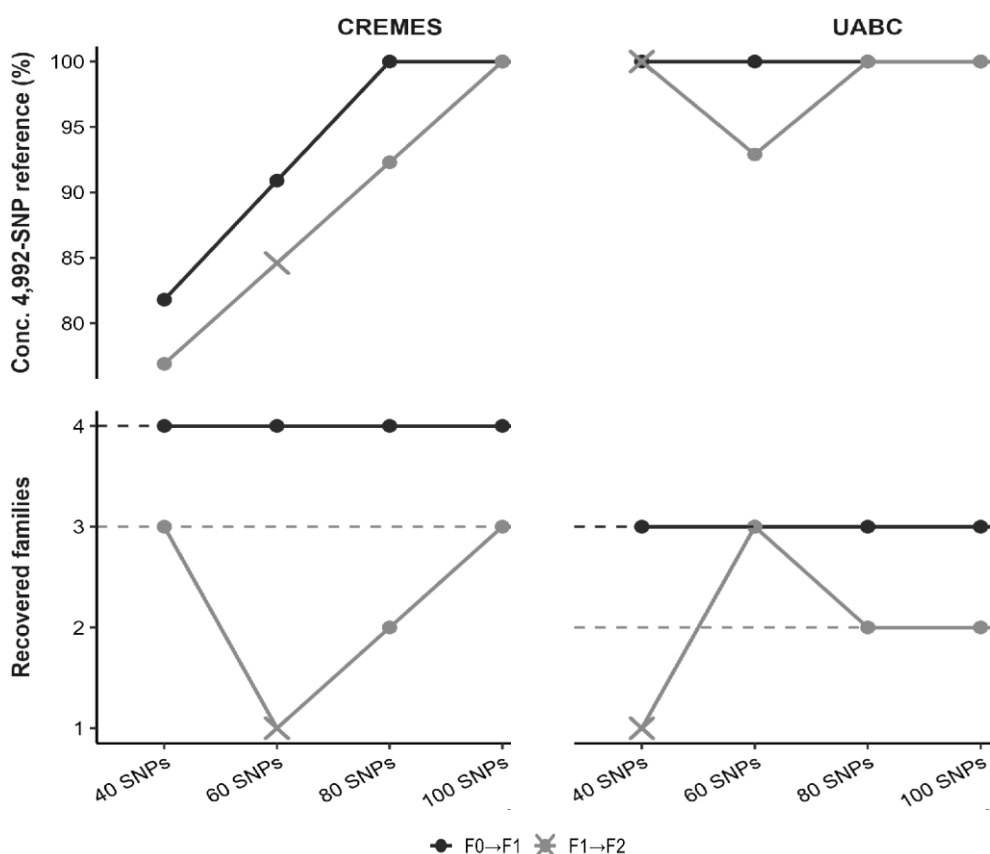


Figura 16. Desempeño de los paneles de pedigrí específicos para cada UMA (CREMES y UABC) en función del tamaño del panel (40, 60, 80 y 100 SNPs). El panel superior muestra la concordancia (%) respecto al conjunto de referencia de 4,992 SNPs y el panel inferior el número de familias recuperadas. Las líneas discontinuas representan el número de familias recuperadas con el conjunto completo de SNPs. Las líneas negras corresponden a la transición F0→F1 y las grises a la transición F1→F2.

7.7.2 Desempeño del panel integrado para ambas UMAs

Para los paneles integrados que consideran simultáneamente las frecuencias alélicas de ambas UMAs, las probabilidades de inclusión y exclusión se mantuvieron en valores elevados y similares a las obtenidas con el conjunto completo de marcadores de referencia (4,992 SNPs). En el caso de las asignaciones de F0→F1 el desempeño fue alto en ambas UMAs y poco sensible al tamaño del panel. En UABC las probabilidades fueron elevadas desde los 40 SNPs [Prob(Inc.) = 0.996; Prob(Exc.) = 0.997] y alcanzaron 1.000 con 60 SNPs o más. En CREMES partieron de valores moderados con 40 SNPs [Prob(Inc.) = 0.757; Prob(Exc.) = 0.703], y se aproximaron a la referencia desde los 60 SNPs [0.983], manteniéndose por encima de 0.97 en los tamaños mayores (Fig. 17).

Las asignaciones de F1→F2 fueron más sensibles al número de marcadores y evidenciaron las fallas estructurales. En CREMES, las probabilidades de inclusión y exclusión disminuyeron de 0.710 con 40 SNPs a 0.351 con 60 SNPs, coincidiendo con el tamaño de panel en el que la reconstrucción del pedigrí colapsó las familias. A partir de 80 SNPs, ambas probabilidades se recuperaron hasta 0.936 y alcanzaron 0.986 con 100 SNPs. En UABC, la falla estructural se manifestó con 40 SNPs como una disociación entre ambas probabilidades: la inclusión se mantuvo alta [Prob(Inc.) = 0.897], mientras que la exclusión se redujo a 0.226 [Prob(Exc.)], lo que indica que el panel identificaba a los progenitores correctos, pero no lograba descartar a los falsos; a partir de 60 SNPs ambas probabilidades se estabilizaron en valores cercanos a 1.000 (Fig. 17).

El panel dual de 100 SNPs alcanzó probabilidades medianas equivalentes a las de la referencia en los dos escenarios generacionales en ambas UMAs, cuatro escenarios generacionales [Prob(Inc.) $\geq$ 0.979 en todos los casos] y reprodujo el número de familias de la referencia (cuatro y tres en CREMES; tres y dos en UABC) con 100% de concordancia con la reconstrucción con los loci de referencia (4,992 SNPs). Esto confirma que un único conjunto de 100 marcadores compartidos reconstruye el pedigrí de ambas UMAs con la misma resolución que la base completa. En el Anexo E se pueden consultar las asignaciones individuales por UMA así como la asignación de progenitores.

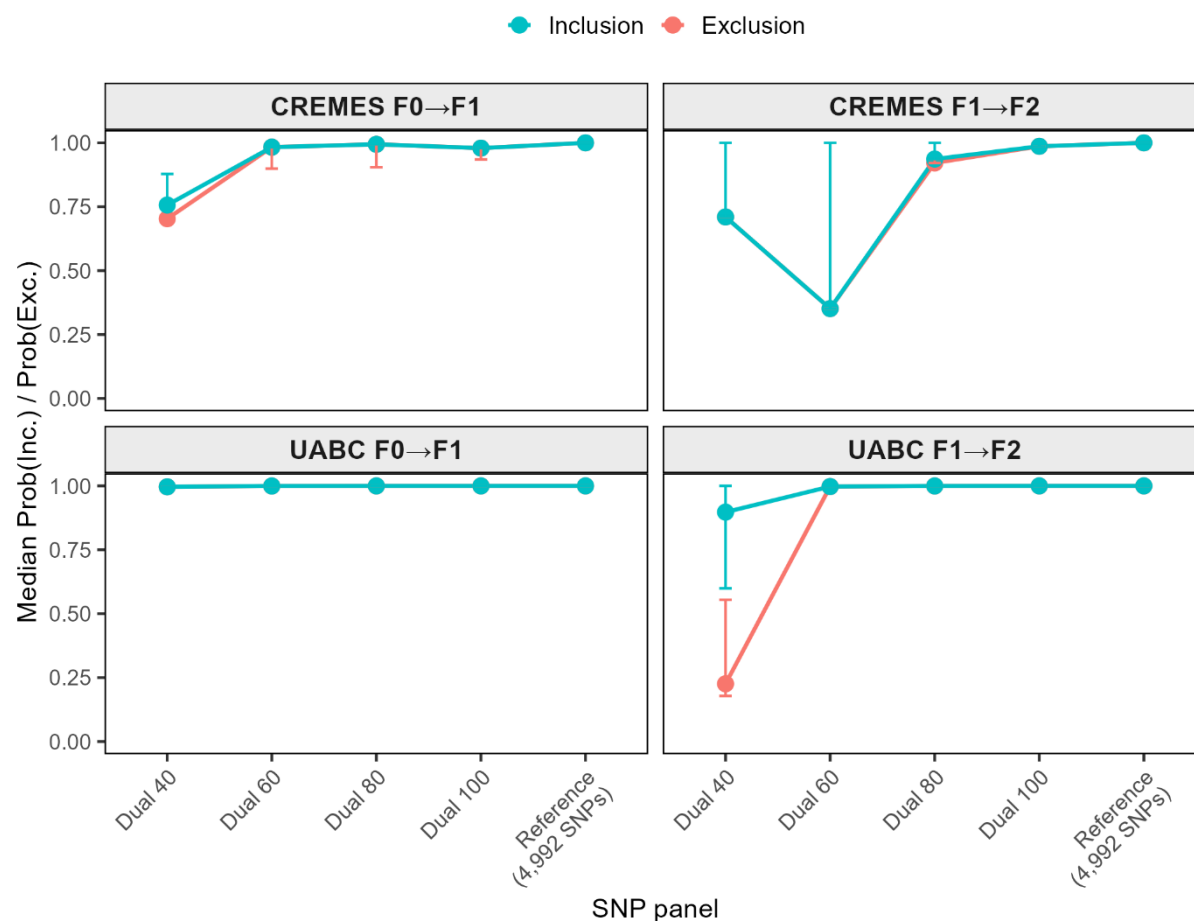


Figura 17. Probabilidades medianas de inclusión y exclusión de las asignaciones de parentesco obtenidas con los paneles duales de reconstrucción de pedigrí en función del tamaño del panel (Dual 40, Dual 60, Dual 80, Dual 100 y conjunto de referencia de 4,992 SNPs). Se muestran los resultados para las transiciones F0→F1 y F1→F2 de las UMAs CREMES y UABC. Los puntos representan la mediana y las barras de error el rango intercuartílico.

El pedigrí de las dos UMAs reconstruido con el panel de 100 SNPs se muestra en la Fig. 18. En CREMES, los descendientes se distribuyeron en varias familias, con progenitores identificados en la mayoría de los casos. En UABC, la estructura familiar estuvo dominada por una sola familia de hermanos completos que agrupó a la mayoría de los individuos F2, en concordancia con el elevado parentesco descrito en la sección 7.4.3. En ambas unidades, algunos progenitores no pudieron asignarse a individuos genotipados y se infirieron como putativos, al no formar parte de los reproductores muestreados. Las probabilidades de inclusión y exclusión individuales de cada escenario se presentan en el Anexo F.

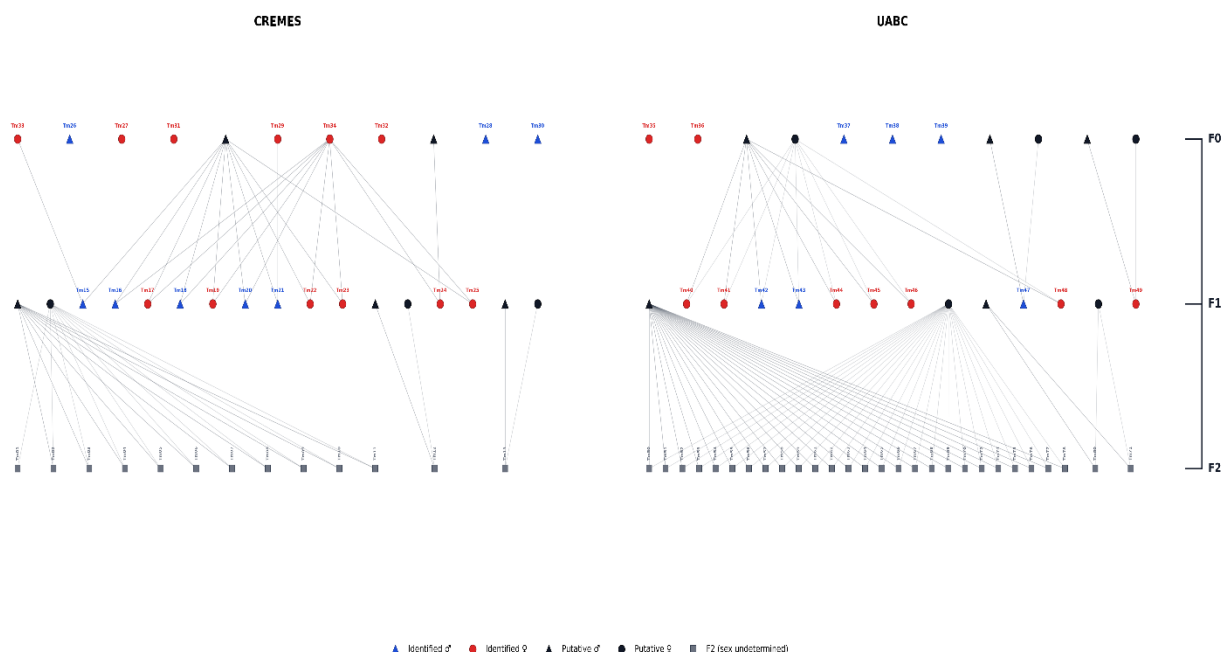


Figura 18. Pedigrí de tres generaciones (F0, F1 y F2) de los reproductores cautivos de *Totoaba macdonaldi* de CREMES y UABC, reconstruido con el panel dual de 100 SNPs en COLONY. Triángulos azules: machos identificados; círculos rojos: hembras identificadas; triángulos y círculos negros: machos y hembras putativas (inferidos); cuadros grises: individuos F2 de sexo indeterminado.

7.8 Validación del panel combinado en asignación de origen

7.8.1 Escenario de dos grupos: cautivo contra silvestre

Los paneles reducidos independientes para trazabilidad (50, 100, 150 y 200 SNPs) seleccionando los loci más divergentes entre grupos basados en F_{ST} , mostraron asignaciones correctas a sus grupos de origen. En el escenario de dos grupos, que contrastó a las UMAs (CREMES y UABC combinados) contra la población silvestre, las precisiones de asignación de los individuos cautivos fueron bajas y variables con los paneles de 50 y 100 SNPs (≈ 52 – 53%), y se incrementaron de manera marcada con el panel de 150 SNPs (82% para cautivos y 88% para silvestres). El panel de 200 SNPs no produjo mejoras adicionales relevantes (Fig. 19; Anexo F).

7.8.2 Escenario de tres grupos: silvestre, CREMES y UABC

En el escenario de tres grupos, el desempeño difirió de manera sustancial entre grupos, reflejando su grado de diferenciación genómica. Los individuos silvestres se asignaron con alta precisión en todos los tamaños de panel (95–100%), con escasa sensibilidad al número de marcadores. Los

individuos de UABC también mostraron precisiones altas y estables (86–92%). En contraste, la precisión de CREMES fue muy variable con paneles pequeños y se incrementó de manera progresiva con el tamaño del panel, desde valores cercanos al 15% con 50 SNPs hasta 78% con 200 SNPs; este último valor igualó el techo de asignación alcanzado con el conjunto completo de 4,992 SNPs, lo que indica que la asignación de CREMES estuvo limitada principalmente por su baja diferenciación genómica respecto a la población silvestre ($F_{ST} = 0.04$) y no por el tamaño del panel (Fig. 20; Anexo F).

7.8.3 Desempeño del panel combinado de 150 SNPs

El panel combinado de 150 SNPs (100 SNPs de pedigrí seleccionados por MAF y 50 SNPs de trazabilidad seleccionados por F_{ST}), se aproximó al desempeño del conjunto de referencia de 4,992 SNPs en todas las comparaciones. En el escenario de dos grupos, alcanzó 97% de precisión para los individuos silvestres y 83% para los cautivos, frente a los valores de referencia de 100% y 84%, respectivamente (Fig. 19). En el escenario de tres grupos, asignó a los individuos silvestres con 100% de precisión igualando la referencia, a UABC con 92% también igualando la referencia y a CREMES con 70%, 8 puntos porcentuales por debajo del valor de referencia de 78% (Fig. 20). El panel combinado de 200 SNPs (100 de pedigrí y 100 de trazabilidad), no mejoró de manera relevante estos resultados: la precisión de CREMES pasó de 70% a 72%, la de UABC disminuyó ligeramente de 92% a 89%, y las precisiones de cautivo y silvestre se mantuvieron equivalentes (Fig. 19 y 20; Anexo E).

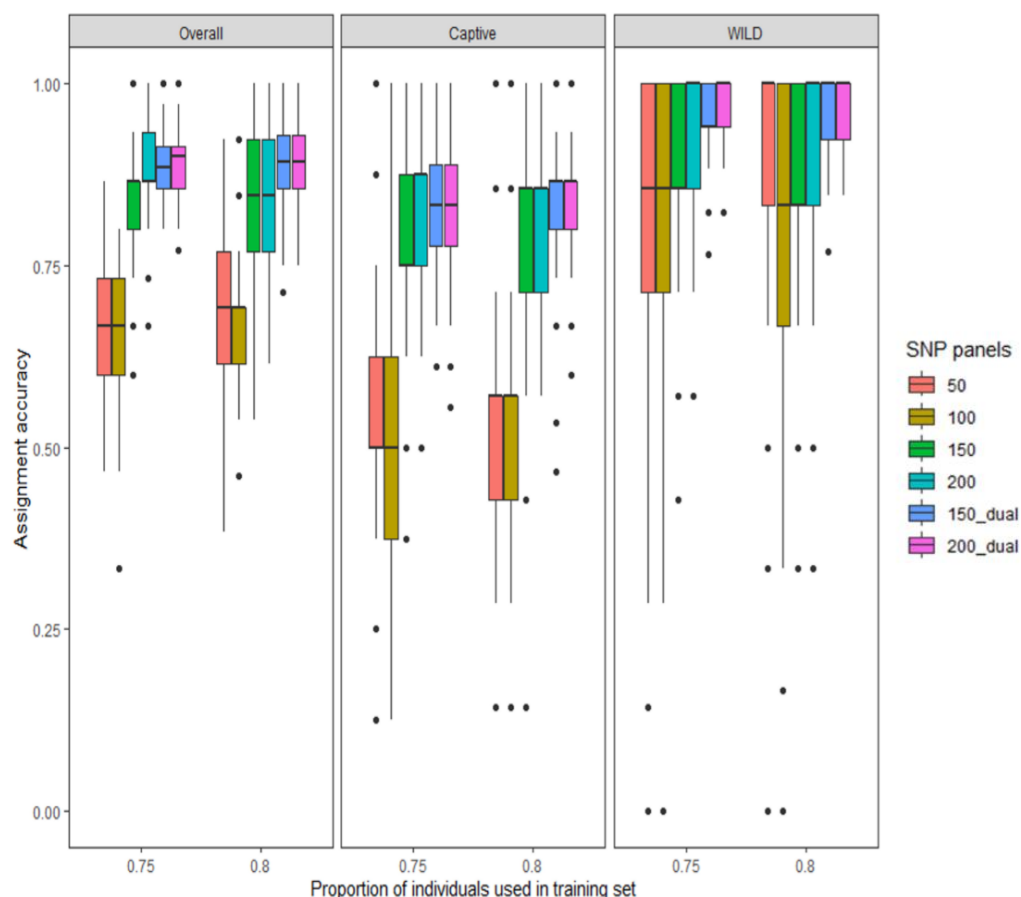


Figura 19. Precisión de asignación de *Totoaba macdonaldi* en función del tamaño del panel de trazabilidad (50, 100, 150 y 200 SNPs) y de los paneles combinados de doble propósito (150_dual y 200_dual). Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.75 y 0.8) mediante validación cruzada de Monte Carlo y máquinas de soporte vectorial (SVM). Los resultados corresponden al escenario de dos grupos y se presentan para tres conjuntos: Global, utilizando todos los individuos; Cautivo, considerando únicamente los reproductores de las UMAs; y Silvestre, considerando únicamente los individuos de la población silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.

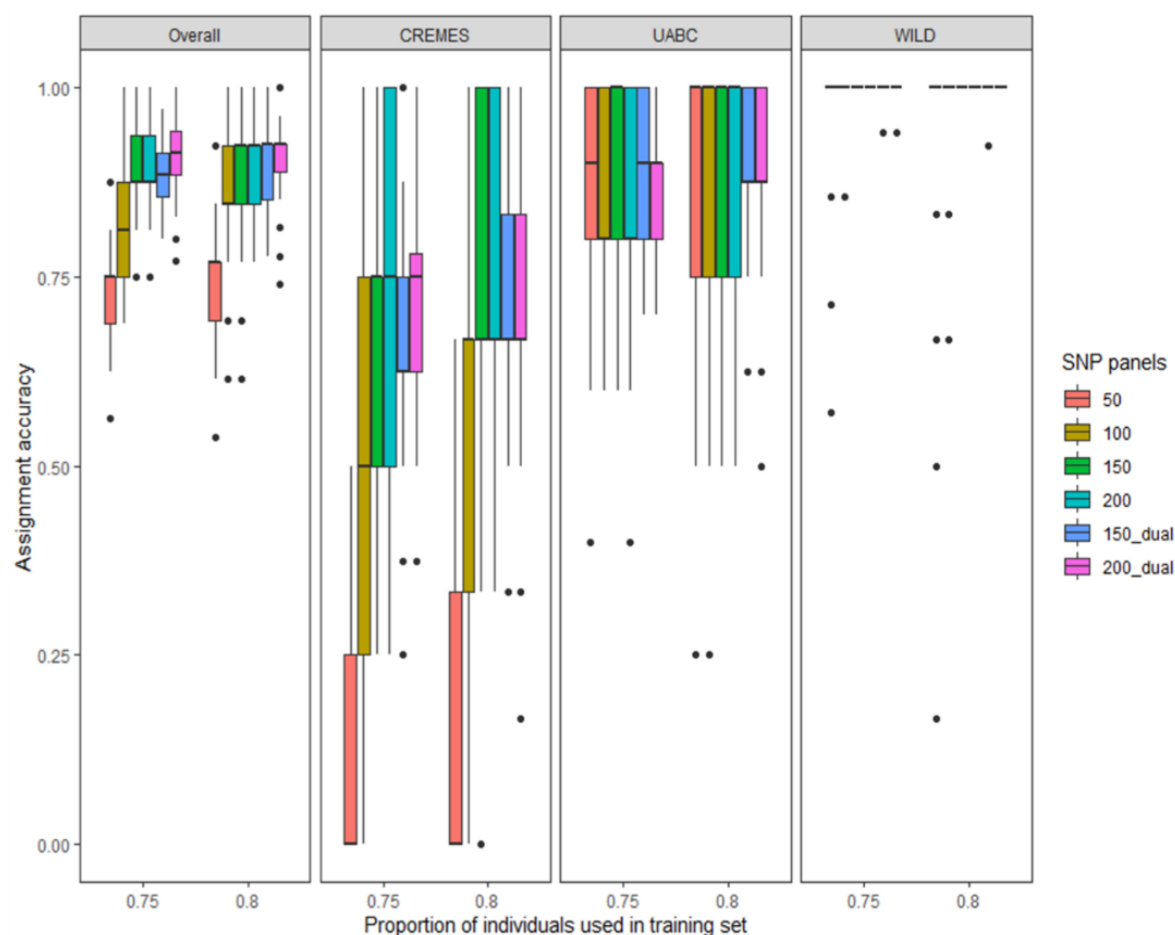


Figura 20. Precisión de asignación de *Totoaba macdonaldi* en función del tamaño del panel de trazabilidad (50, 100, 150 y 200 SNPs) y de los paneles combinados de doble propósito (150_dual y 200_dual), en el escenario de tres grupos. Se evaluaron dos proporciones de individuos utilizadas para el entrenamiento del modelo (0.75 y 0.8) mediante validación cruzada de Monte Carlo y máquinas de soporte vectorial (SVM). Los resultados se presentan para cuatro conjuntos: Global, utilizando todos los individuos; CREMES y UABC, considerando por separado los reproductores de cada UMA; y Silvestre, considerando únicamente los individuos de la población silvestre. En las gráficas de cajas, la línea central representa la mediana; los límites de la caja corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes representan los valores mínimo y máximo excluyendo los atípicos; y los puntos negros corresponden a valores atípicos.

7.8.4 Estructura poblacional con el panel multipropósito

La estructura poblacional visualizada mediante DAPC con el panel combinado de 150 SNPs recuperó los tres grupos genéticos principales (silvestre, CREMES y UABC), así como subestructura generacional dentro de cada UMA (Fig. 21). Los individuos F2 de UABC conformaron el agrupamiento más distintivo, completamente separado de los demás a lo largo del primer eje discriminante. Los individuos F1 y F2 de CREMES se separaron de la población silvestre a lo largo

del segundo eje discriminante, mientras que los individuos F0 de CREMES ocuparon una posición intermedia, congruente con su origen silvestre, y mostraron traslape parcial con la población silvestre.

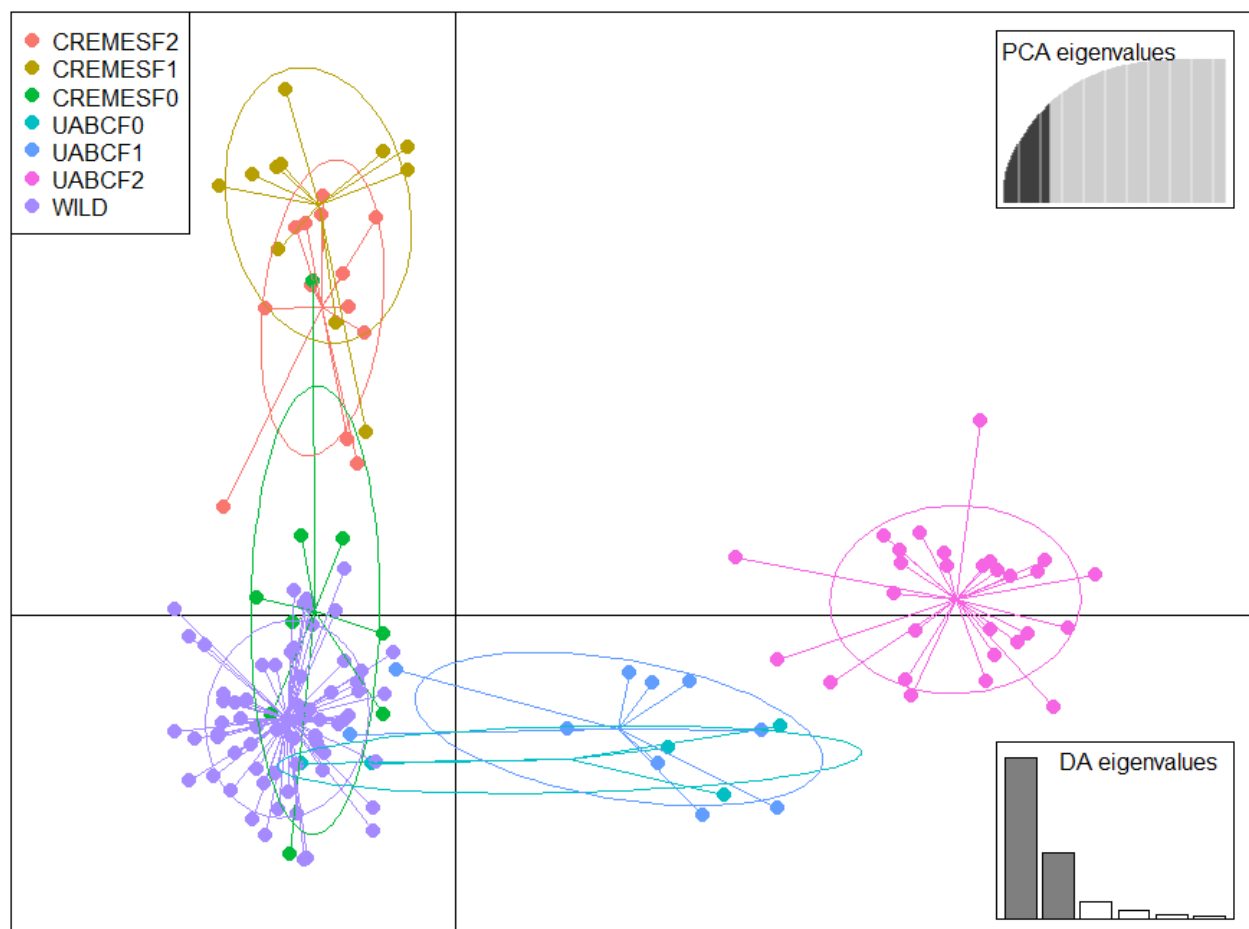


Figura 21. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de *Totoaba macdonaldi* con base en el panel multipropósito de 150 SNPs, donde se muestran los tres grupos (silvestre, CREMES y UABC) y la subestructura generacional (F0, F1 y F2) dentro de cada UMA.

8. DISCUSIÓN

Este estudio constituye la primera caracterización genómica de *Totoaba macdonaldi* basada en ddRAD-seq, que integra a la población silvestre y a los reproductores de dos UMAs a lo largo de tres generaciones, y es empleada para diseñar y validar un panel reducido de SNPs de doble propósito. Los resultados describen una población silvestre que se comporta como una sola unidad panmíctica con altos valores de diversidad (secciones 7.3 y 7.4.1), UMAs diferenciadas y con parentesco elevado (secciones 7.4.2 y 7.4.3), y un conjunto de marcadores capaz de reconstruir el pedigrí y asignar el origen de los individuos con una resolución cercana a la del conjunto completo (secciones 7.7 y 7.8). A continuación, se discuten estos hallazgos en el orden de los objetivos, desde la generación de los datos hasta sus implicaciones para el manejo y la trazabilidad.

8.1 Muestreo, extracción de ADN y preparación de bibliotecas

La calidad de los datos de un estudio de ddRAD-seq depende en primera instancia de la integridad del ADN de partida y de la preparación de las bibliotecas, ya que el ADN degradado reduce el número de fragmentos recuperados y la reproducibilidad de los marcadores (Graham *et al.*, 2015). En este estudio, el ADN de los 170 individuos presentó alto peso molecular, con una integridad y concentración adecuada para la digestión (sección 7.1, Fig. 4), lo que estableció una base apropiada para la construcción de las bibliotecas. Los puntos de control aplicados durante la preparación (la verificación de la digestión y la ligación, y el control de la selección de tamaño tras el Pippin Prep (Fig. 5 y 6) permitieron confirmar la correcta realización de cada etapa antes de la secuenciación, una práctica recomendada para minimizar la pérdida de loci atribuible a problemas de librería (Andrews *et al.*, 2016; Puritz *et al.*, 2014).

El número de lecturas por individuo varió de forma considerable entre los tres grupos, con un promedio mucho mayor en CREMES (sección 7.2.1). Esta heterogeneidad es habitual en bibliotecas ddRAD multiplexadas con muchos individuos por pool, donde pequeñas diferencias en la cuantificación y en la combinación equimolar de las muestras se traducen en diferencias de cobertura entre individuos (Andrews *et al.*, 2016). En el presente caso, la distribución de los individuos en cuatro pools (sección 7.1) y el uso de códigos de barras individuales, permitieron rastrear esa variación y descartar de manera objetiva a los individuos con cobertura insuficiente

(sección 7.2.1), de modo que la variación en el número de lecturas no compromete las conclusiones: el filtrado posterior aseguró una cobertura mínima homogénea entre los individuos retenidos.

8.2 Calidad de los datos y procesamiento bioinformático

La ausencia de un genoma de referencia para *Totoaba macdonaldi* requirió un ensamblaje *de novo* de los loci, la cual es una estrategia ampliamente validada para especies no modelo sin recursos genómicos previos (Catchen *et al.*, 2013; Rochette y Catchen, 2017). El principal riesgo de este enfoque es la elección de los parámetros de ensamblaje, pues valores inadecuados pueden fusionar loci parálogos o fragmentar loci verdaderos, sesgando el número de marcadores y las estimaciones de diversidad (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015; Paris *et al.*, 2017). Para controlar este riesgo se exploraron 27 combinaciones de parámetros y se seleccionó la que maximizó el número de SNPs recuperados (sección 7.2.2, Fig. 3, Anexo B), siguiendo el procedimiento de optimización propuesto por Paris *et al.* (2017). La aplicación de la regla r80 (retener loci presentes en al menos el 80% de los individuos) en el módulo *populations* sirve para favorecer marcadores bien representados (Paris *et al.*, 2017; Díaz-Arce y Rodríguez-Ezpeleta, 2019).

Dos elementos respaldan la confiabilidad de los genotipos obtenidos. Primero, la profundidad promedio de cobertura fue de 90× (sección 7.2.2), muy por encima del umbral en que el error de genotipificación se incrementa de manera apreciable: coberturas bajas, del orden de 5 a 10×, elevan el error, mientras que coberturas altas como la aquí alcanzada lo minimizan (Fountain *et al.*, 2016; Nielsen *et al.*, 2011). Segundo, la inclusión de 13 réplicas de muestra permitió estimar de forma directa el error de genotipificación, el cual fue de 0.03% (sección 7.2.2), un valor comparable al de otros estudios de ddRAD que lo cuantificaron con réplicas (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015) e indicativo de una alta reproducibilidad. Los pasos de filtrado posteriores (sección 7.2.3, Tabla 2) (eliminación de loci con exceso de datos faltantes, en desequilibrio de ligamiento y con desviación de Hardy-Weinberg, así como la verificación de la ausencia de loci atípicos bajo selección), permitió la obtención de un conjunto neutral final de 4,992 SNPs apropiado para inferencias poblacionales, tal como se ha observado en otros estudios con un enfoque similar (Sherman *et al.*, 2020; Mejía-Ruíz *et al.*, 2023; Tong *et al.*, 2023; Vu *et al.*, 2023).

8.3 Diversidad genética

Para una especie sujeta a una intensa presión de pesca ilegal y un estatus de amenaza, la población silvestre conserva una diversidad genética alta, con una heterocigosidad observada cercana a la esperada y un coeficiente de endogamia próximo a cero (sección 7.3.1, Tabla 3). Estos valores, estimados con SNPs bialélicos, son menores en términos absolutos que los reportados para totoaba con microsatélites (Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2015, 2016) y con paneles de SNP previos (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023), como es esperable por la naturaleza bialélica de los marcadores; la comparación relevante no es el valor absoluto, sino la consistencia del patrón de baja endogamia entre tipos de marcadores. Esa consistencia indica que la población silvestre no muestra señales de erosión genética reciente, en línea con lo reportado para la especie (Valenzuela-Quiñonez *et al.*, 2014, 2015). No obstante, las muestras silvestres corresponden a 2010–2013 y la pesca ilegal ha continuado (sección 2.1.2), por lo que el estado genético actual podría diferir del aquí descrito.

La diversidad fue menor en los individuos en cautiverio, como se espera en planteles fundados con pocos individuos (Allendorf *et al.*, 2022). En ambas UMAs, la heterocigosidad observada superó a la esperada, lo que se reflejó en coeficientes de endogamia negativos (sección 7.3.1). Este exceso de heterocigotos puede tener varias explicaciones cuya distinción tiene implicaciones de manejo: además de interpretarse como ausencia de endogamia, puede originarse por un efecto Wahlund cuando se combinan reproductores de orígenes distintos, por mezcla o por la inclusión de los fundadores F0 en las estimaciones por UMA (Allendorf *et al.*, 2022). En este caso, la explicación más plausible es la contribución de los fundadores F0: al ser individuos de captura silvestre, aportan variación de origen natural que eleva la heterocigosidad de la UMA y puede enmascarar la deriva acumulada en las generaciones siguientes. El uso de un número elevado de SNPs reduce el efecto de los tamaños de muestra reducidos sobre estas estimaciones, por lo que es poco probable que el patrón se deba al muestreo (Willing *et al.*, 2012).

El desglose por cohorte generacional hace explícito este proceso (sección 7.3.1, Tabla 3): la riqueza alélica y la heterocigosidad esperada disminuyeron de F0 a F2 en ambas UMAs, de forma más marcada en UABC, mientras que la heterocigosidad observada se mantuvo relativamente estable. La disminución progresiva de la riqueza alélica y de la heterocigosidad a lo largo de generaciones mantenidas en cautiverio, acompañada por un incremento del parentesco entre

reproductores, ha sido documentada en diversas especies acuáticas bajo cultivo (Williams y Hoffman, 2009) y puede manifestarse en pocas generaciones cuando los programas reproductivos operan con un número reducido de fundadores o con contribuciones familiares desbalanceadas (Christie *et al.*, 2012). Este patrón resulta particularmente relevante al compararlo con otros peces de la Familia Scianidae sujetos a programas de cría. En *Bahaba taipingensis*, especie críticamente amenazada y también explotada por el valor de su vejiga natatoria, la descendencia F1 producida en cautiverio presentó mayores niveles de endogamia y una mayor homogeneización genética respecto a la población silvestre (Hu *et al.*, 2025). De manera similar, en la corvina amarilla (*Larimichthys crocea*), las poblaciones cultivadas mostraron una reducción de 18–22 % en la heterocigosidad en comparación con las poblaciones silvestres (Jiang *et al.*, 2025). La concordancia entre estos casos y el patrón observado en totoaba sugiere, que la erosión de la variación genética a lo largo de generaciones cautivas constituye un riesgo recurrente en programas de reproducción de este grupo de peces, por lo que resulta indispensable implementar esquemas explícitos de manejo genético orientados a controlar el parentesco, equilibrar la contribución familiar y conservar la variabilidad disponible.

8.4 Tamaño efectivo poblacional

La estimación del tamaño efectivo poblacional utilizando dos métodos, difirió de forma marcada entre la población silvestre y las UMAs (sección 7.3.2, Tabla 4). Las estimaciones basadas en desequilibrio de ligamiento ($LD-Ne$), deben leerse con cautela en este diseño, porque los conjuntos analizados incluyen individuos de cohortes que se traslapan en el tiempo; bajo esas condiciones, el valor obtenido se aproxima más a un proxy del número de reproductores efectivos que a un Ne contemporáneo en sentido estricto (Do *et al.*, 2014; Waples, 2024). En la población silvestre la estimación por LD fue alta, mayor que las reportadas previamente para la especie (Valenzuela-Quíñonez *et al.*, 2014); sin embargo, su límite superior no pudo acotarse de manera confiable, el intervalo de confianza se extiende hasta el infinito y el método por exceso de heterocigotos arrojó un valor infinito (sección 7.3.2), un comportamiento esperable cuando el Ne real es grande en relación con el tamaño de muestra (Waples, 2024). Aun con esta indeterminación, el valor es congruente con la diversidad relativamente alta de la población silvestre (sección 8.3) y con la magnitud esperada para una población marina de amplia distribución.

En contraste, las dos UMAs presentaron valores de N_e muy bajos por ambos métodos (sección 7.3.2, Tabla 4). Los umbrales clásicos de la regla 50/500, un N_e de 50 para evitar la endogamia a corto plazo y de 500 para preservar el potencial evolutivo a largo plazo, han sido revisados al alza a 100 y 1000, respectivamente, con base en la evidencia acumulada (Frankham *et al.*, 2014; Jamieson y Allendorf, 2012). Con un N_e inferior a 20, ambas UMAs se sitúan muy por debajo incluso del umbral más conservador, lo que implica una tasa elevada de acumulación de endogamia por generación, consistente con la caída de heterocigosidad esperada y observada de F0 a F2 (sección 7.3.1). Un N_e de esta magnitud significaría que en cada generación se pierden alelos al azar, se incrementa la probabilidad de cruza entre parientes y se expresan los efectos deletéreos de la endogamia, con la consecuente reducción del potencial adaptativo y de la viabilidad del plantel a largo plazo. Dado que en un sistema reproductivo cerrado estos efectos son acumulativos y difícilmente reversibles, el manejo genético debe orientarse a incrementar el número efectivo de reproductores. Este es el resultado de mayor relevancia para el manejo de las UMAs: sin la incorporación periódica de nuevos reproductores silvestres y sin un intercambio de material genético entre UMAs, la base reproductiva seguirá erosionándose. La eficacia de incorporar individuos silvestres para frenar la pérdida de diversidad y la adaptación a la cautividad en planteles cerrados está bien documentada (Williams y Hoffman, 2009).

8.5 Estructura poblacional

8.5.1 Panmixia en la población silvestre

Las tres aproximaciones empleadas coincidieron en la ausencia de estructura genética entre las localidades silvestres (sección 7.4.1): los F_{ST} por pares fueron bajos y no significativos (Tabla 5), el DAPC no mostró un mínimo de BIC, ni agrupamientos discretos (Fig. 7) y STRUCTURE no reveló subdivisión al inspeccionar $K = 3$ a $K = 5$ (Fig. 8). Aunque el estadístico ΔK indicó $K = 2$, este criterio tiene la limitación conocida de no evaluar $K = 1$ como solución posible y de tender a señalar $K = 2$ incluso en ausencia de estructura, por lo que la inspección directa de las gráficas de mezcla (que aquí no reveló subdivisión), es una práctica adecuada para su interpretación. Este resultado coincide con la panmixia propuesta para la totoaba con microsatélites y ADN mitocondrial (Valenzuela-Quíñonez *et al.*, 2015, 2016), e indica flujo génico a lo largo del Golfo de California, congruente con el ciclo de vida migratorio de la especie, en el que el Alto Golfo funciona como zona de reproducción y crianza y los adultos se desplazan tras el desove (Cisneros-Mata *et al.*,

1995). La panmixia a escala de toda el área de distribución es un patrón frecuente en peces marinos con fase larvaria dispersiva y sin barreras geográficas evidentes. Adicionalmente, al agrupar a los individuos silvestres por año de captura, los valores de F_{ST} por pares entre cohortes anuales resultaron bajos y no significativos, y el DAPC no mostró agrupamientos discretos entre años. Esta ausencia de diferenciación temporal indica estabilidad genética de la población silvestre durante el periodo muestreado (2010–2013), en concordancia con lo reportado previamente para la especie (Valenzuela-Quíñonez et al., 2014), y respalda el uso de la línea base silvestre como referencia frente a las UMAs pese al desfase temporal respecto a las muestras cautivas.

8.5.2 Diferenciación entre la población silvestre y las UMAs

A diferencia de las localidades silvestres, se detectó diferenciación genética significativa entre la población silvestre y las UMAs, así como al comparar entre las dos UMAs (sección 7.4.2, Tabla 6). El DAPC y STRUCTURE identificaron tres grupos correspondientes a la población silvestre, CREMES y UABC, con los fundadores F0 de ambas UMAs mostrando mezcla con la población silvestre, congruente con su origen de captura (Fig. 9). La diferenciación entre las UMAs y la población silvestre, y especialmente la observada entre las dos UMAs (la mayor de todas las comparaciones), es atribuible al manejo independiente de cada unidad, a la deriva acelerada por su bajo N_e (sección 8.4) y a la estructura familiar de las generaciones F1 y F2. La divergencia progresiva de las UMAs respecto a su población de origen, es un fenómeno general en organismos bajo cultivo, producto de la deriva, la adaptación a la cautividad y la selección relajada (Lorenzen *et al.*, 2012; Williams y Hoffman, 2009). Que la mayor diferenciación se observe entre las dos UMAs indica que sus bases reproductivas han divergido de manera independiente, lo que refuerza el argumento a favor del intercambio de material genético entre ellas (sección 8.4).

8.5.3 Parentesco dentro de las UMAs

El análisis de parentesco aportó una visión complementaria de la estructura de las UMAs (sección 7.4.3, Fig. 10). La ausencia de individuos emparentados en la población silvestre es congruente con su origen de captura en una población grande y panmíctica, mientras que el elevado parentesco dentro de las UMAs refleja su estructura familiar. La diferencia entre ambas UMAs mostró que en CREMES el parentesco se reparte en varios grupos familiares, en tanto que en

UABC casi todos los individuos quedan conectados en un solo grupo de parentesco y el coeficiente medio es cercano al doble (sección 7.4.3). Esta concentración del parentesco en UABC, donde una sola familia de hermanos completos domina la generación F2, es la misma señal que subyace a su bajo N_e (sección 8.4) y, como se discute más adelante, condiciona el desempeño de los paneles de pedigrí (sección 8.8). Que los pocos individuos sin parientes detectados correspondan en ambas UMAs a las generaciones fundadoras, confirma que el parentesco se generó dentro del programa de cría, a partir de un número reducido de reproductores efectivos.

8.6 Asignación de origen con la base genómica completa

La asignación de origen con el conjunto de 4,992 SNPs, clasificó a los individuos en su grupo con precisiones altas, tanto en el esquema que combina las UMAs como en el que las evalúa por separado (secciones 7.5.1 y 7.5.2, Fig. 11 y 12). En todos los casos, la precisión fue mayor para los individuos silvestres que para los de cautiverio, y la más baja correspondió a CREMES, de manera congruente con su menor diferenciación respecto a la población silvestre ($F_{ST} = 0.04$; sección 7.4.2). Este resultado muestra que la capacidad de asignar a un individuo a su grupo de origen está determinada por el grado de diferenciación genómica entre los grupos, y no por el método: cuanto más se parece un plantel a la población silvestre, más difícil es distinguir a sus individuos.

La interpretación de estas precisiones debe considerar las posibles fuentes de sesgo. El sesgo por sobre estimación (*high-grading bias*), que incrementa artificialmente la precisión de asignación cuando los conjuntos de entrenamiento y prueba no son independientes, se controló mediante un proceso de validación cruzada de Monte Carlo con conjuntos independientes y múltiples remuestreos (sección 7.5; Anderson, 2010; Waples, 2010). Asimismo, el control del parentesco, al conservar únicamente un individuo por familia, redujo el porcentaje de asignación dentro de las UMAs, mientras que la población silvestre mantuvo una precisión del 100% (secciones 7.5.1 y 7.5.2). Esta disminución era esperable, ya que la eliminación de los hermanos redujo el tamaño de muestra efectivo de las UMAs y, en consecuencia, aumentó la variabilidad de la señal de asignación. Este efecto se incrementa debido al reducido número de reproductores disponibles, lo cual no pudo compensarse debido a que se incluyó la totalidad de los individuos disponibles en las UMAs. No obstante, el uso de un número elevado de marcadores mitiga el efecto del tamaño de muestra sobre las estimaciones de diferenciación (Willing *et al.*, 2012). Finalmente, las altas probabilidades de asignación de los individuos de origen desconocido en ambos esquemas de

análisis (sección 7.5.3, Fig. 13) respaldan la capacidad predictiva del panel de marcadores seleccionado y sugiere que este podría ser utilizado para asignar con alta precisión a individuos obtenidos en futuras capturas, con potencial aplicación en programas de trazabilidad.

8.7 Diseño de paneles reducidos de SNPs

El diseño de los paneles reducidos se basó en que los dos objetivos de este estudio requieren marcadores con propiedades opuestas. La reconstrucción de pedigrí se beneficia de loci con frecuencia del alelo menor (MAF) elevada, ya que estos maximizan la probabilidad de que los progenitores difieran en su genotipo y, en consecuencia, incrementan el poder de exclusión por locus (Anderson y Garza, 2006; Vandeputte y Haffray, 2014). Por el contrario, la asignación de origen requiere loci altamente diferenciados entre grupos, es decir, con valores elevados de F_{ST} (Anderson, 2010). Debido a que loci óptimos para una tarea, no necesariamente lo son para la otra, la selección dirigida hacia un objetivo introduce un sesgo de *ascertainment*, que limita su desempeño en aplicaciones alternativas (May *et al.*, 2020). Esta lógica se reflejó en los resultados: los paneles destinados al análisis de pedigrí se construyeron con loci de MAF cercana al máximo teórico (sección 7.6.1, Fig. 14), mientras que los paneles de trazabilidad se conformaron con los loci de mayor F_{ST} , los cuales presentaron una MAF más variable, evidenciando el equilibrio entre maximizar la divergencia entre grupos y mantener la heterocigosidad dentro de ellos (sección 7.6.2, Fig. 15).

Un hallazgo relevante del diseño es que la capacidad de asignación de CREMES quedó limitada por su baja diferenciación respecto a la población silvestre, y no por el número de marcadores: su precisión con los paneles de trazabilidad no superó la alcanzada utilizando la base completa de 4,992 SNPs (sección 7.8.2). Esto indica que la principal limitación es biológica (la cercanía genética entre CREMES y la población silvestre (sección 7.4.2), más que metodológica, por lo que es poco probable que un incremento adicional en el número de SNPs produzca mejoras sustanciales en la precisión de asignación. El flujo de trabajo implementado, que parte de un conjunto neutral filtrado y selecciona marcadores por criterios explícitos de MAF y F_{ST} , es consistente al empleado para diseñar paneles de baja densidad en otras especies acuícolas (Holman *et al.*, 2017; Kriaridou *et al.*, 2020), lo que respalda la transferibilidad del enfoque.

8.8 Reconstrucción de pedigrí

Los paneles de pedigrí reconstruyeron las relaciones de parentesco de las UMAs con una resolución creciente conforme aumentó el número de marcadores (sección 7.7). El aspecto más informativo de estos resultados no es la concordancia global, que puede alcanzar valores altos incluso con paneles pequeños, sino las fallas estructurales que revela el número de familias recuperadas (sección 7.7.1, Fig. 16): en las transiciones $F1 \rightarrow F2$, los paneles más pequeños colapsaron a todos los descendientes en una sola familia. Este comportamiento se explica por la estructura familiar de los planteles y es especialmente claro en UABC, donde la mayoría de los individuos $F2$ son hermanos completos de una sola familia (sección 7.4.3); cuando el número de marcadores es insuficiente para distinguir genotipos muy parecidos, el método agrupa a toda la descendencia en una única familia, produciendo una concordancia aparentemente alta, pero biológicamente incorrecta. La señal numérica de esta falla es nítida en el panel dual (sección 7.7.2, Fig. 17): en UABC con 40 SNPs, la probabilidad de inclusión se mantuvo alta, mientras que la de exclusión se desplomó, lo que indica que el panel ubicaba a los progenitores correctos, pero no lograba descartar a los falsos.

Estos resultados indican que el número de marcadores necesario para reconstruir correctamente un pedigrí no es un valor fijo, sino que depende del grado de parentesco y de la estructura familiar de cada UMA. Conforme aumenta el parentesco entre los reproductores, también aumenta el número de marcadores necesarios para discriminar entre familias. En la totoaba, un panel de 100 SNPs (tanto específico para cada UMA como dual) reprodujo el número de familias y las asignaciones obtenidas con la base completa en los cuatro escenarios generacionales evaluados (sección 7.7.2). Este tamaño es comparable con lo reportado para la asignación de parentesco en otras especies acuícolas, donde aproximadamente 100 SNPs permiten construir el parentesco con alta precisión (Holman *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2016), y es consistente con la observación general de que unos pocos cientos de marcadores, o incluso menos, bastan para la inferencia de parentesco en planteles de cultivo (Vandeputte y Haffray, 2014). Además, el hecho de que un único panel dual de 100 marcadores compartidos reconstruyera el pedigrí de ambas UMAs con la misma resolución que la base completa (sección 7.7.2, Fig. 18) representa una ventaja práctica importante para su aplicación, porque permite manejar las dos unidades con una sola

herramienta. Las asignaciones individuales que sustentan estos resultados se detallan en los Anexos E y F.

8.9 Panel reducido global de doble propósito

La validación del panel combinado demostró que es posible integrar en un mismo conjunto funcional marcadores seleccionados con criterios genéticos distintos para satisfacer objetivos complementarios. El panel de 150 SNPs (100 de pedigrí seleccionados por MAF y 50 de trazabilidad seleccionados por F_{ST}) alcanzó un desempeño muy parecido al de la base completa en todas las comparaciones de asignación, e igualó la referencia para los individuos silvestres y de UABC (sección 7.8.3, Fig. 19 y 20). Considerando que este panel representa únicamente alrededor del 3% de los 4,992 SNPs iniciales, estos resultados muestran que una fracción reducida de marcadores cuidadosamente seleccionados puede conservar la mayor parte de la capacidad informativa del conjunto completo.

En contraste, la precisión de asignación para CREMES permaneció por debajo de la obtenida con la base completa y no mejoró al incrementar el panel a 200 SNPs, resultado consistente con la limitada diferenciación genética entre CREMES y la población silvestre discutida en la sección 8.7. Asimismo, el panel combinado recuperó los tres grupos genéticos y la subestructura generacional dentro de cada UMA mediante el DAPC (sección 7.8.4, Fig. 21), lo que muestra que también conserva la información necesaria para describir la estructura poblacional pese a su tamaño reducido. Estos resultados respaldan la viabilidad de desarrollar paneles de doble propósito que, aunque no maximiza ninguno de los dos objetivos por separado debido al sesgo de *ascertainment* inherente a la combinación (May *et al.*, 2020), mantienen un desempeño cercano al óptimo tanto para la reconstrucción de pedigrí como para la asignación de origen.

La utilidad de este panel debe evaluarse en el contexto de las herramientas que se emplean actualmente para la gestión genética de la totoaba. La asignación parental se realiza mediante el panel de microsatélites establecido en la NOM-169 (DOF, 2018) y, más recientemente, con un panel de 96 SNPs desarrollado para incrementar la precisión de las asignaciones (Enríquez-Paredes y Victoria-Cota, 2023). La elección entre microsatélites y SNP depende del objetivo. Para un número reducido de muestras, un panel pequeño de microsatélites continúa siendo una alternativa económicamente competitiva, por lo que un panel de SNP no sustituye

necesariamente a la herramienta vigente. Sin embargo, los SNPs ofrecen ventajas ampliamente reconocidas, entre ellas su alta reproducibilidad, sus bajas tasas de error y la posibilidad de estandarizar e intercambiar genotipos entre laboratorios sin necesidad de recalibración, facilitando que las UMAs, los laboratorios y las autoridades validen el origen de las muestras mediante criterios comparables (Yue y Xia, 2014; Bernatchez *et al.*, 2017; Wenne, 2023). En este contexto, el panel desarrollado en este estudio aporta una ventaja adicional al integrar en un solo conjunto de marcadores dos aplicaciones que generalmente se abordan por separado: la reconstrucción de pedigrí y la asignación de origen. Esto permite que una misma herramienta genómica genere información útil tanto para el manejo reproductivo de las UMAs como para la trazabilidad de los organismos, ampliando su potencial de aplicación en programas de monitoreo y manejo genético de la especie.

8.10 Implicaciones para el manejo, la trazabilidad y la aplicación de la ley

Los resultados obtenidos tienen aplicaciones directas para el manejo genético de las UMAs y para el desarrollo de estrategias de trazabilidad de la totoaba. En conjunto, el bajo tamaño efectivo de las UMAs (sección 8.4), la reducción de la diversidad genética entre generaciones (sección 8.3) y la diferenciación observada entre UMAs (sección 8.5) indican que el mantenimiento de la variabilidad genética dependerá de implementar medidas de manejo orientadas a limitar la deriva genética y la endogamia. Entre ellas destacan la incorporación de nuevos reproductores silvestres para ampliar la base genética, el intercambio de material genético entre UMAs para evitar el aislamiento de los mismos a unas pocas familias, el mantenimiento de registros de pedigrí que permitan planificar los cruzamientos y minimizar la endogamia, así como la conservación de niveles adecuados de diversidad genética que reduzcan los efectos asociados a la adaptación a la cautividad. En este contexto, el panel reducido de SNPs desarrollado en este estudio proporciona una herramienta práctica para la reconstrucción de pedigríes (sección 8.8). Una vez seleccionados los marcadores, el panel puede implementarse mediante técnicas de genotipado dirigido con un bajo costo por muestra, como la genotipificación por secuenciación de amplicones (GT-seq; Campbell *et al.*, 2015) considerablemente más económicas que la secuenciación empleada para el descubrimiento de los marcadores y que escalan de manera eficiente con el número de muestras. Esta ventaja es especialmente relevante en el manejo rutinario de las UMAs, donde se requiere genotipar lotes de reproductores y descendientes de forma repetida cada temporada.

En programas de manejo de otras especies, paneles de SNP analizados con métodos de asignación equivalentes han permitido sustituir el marcaje físico por asignaciones de parentesco basadas en SNPs con alta precisión y menor costo, integrando el marcaje por parentesco a la evaluación y el manejo rutinario de los planteles (Beacham *et al.*, 2021).

En materia de trazabilidad, el panel permite asignar individuos a su grupo de origen y reconstruir relaciones de parentesco, dos características que aportan información relevante para distinguir entre la producción legal y la pesca ilegal. En México, la normativa establece una distinción que convierte esta capacidad en un problema de trazabilidad concreto: el aprovechamiento legal de la totoaba se realiza a través de las UMAs bajo la regulación nacional (DOF, 2018; sección 2.1.2), mientras que su inclusión en la CITES restringe el comercio internacional. En este contexto, la capacidad de distinguir entre organismo de origen silvestre y de cultivo, así como establecer su relación con reproductores conocidos, constituye una fuente de evidencia genética que puede complementar los mecanismos de verificación del origen de los ejemplares. Herramientas basadas en marcadores genéticos se han desarrollado para la trazabilidad y el combate al comercio ilegal en otras especies y productos pesqueros (Nielsen *et al.*, 2012; Milan *et al.*, 2019), y en el ámbito forense de la vida silvestre la asignación genética del origen de especímenes decomisados es una línea consolidada de apoyo a la aplicación de la ley (Ogden y Linacre, 2015). Los resultados obtenidos en este estudio muestran que un panel reducido de SNPs tiene el potencial de desempeñar una función equivalente para la totoaba.

El alcance de estas aplicaciones debe interpretarse a la luz de las limitaciones del estudio. Las muestras silvestres corresponden al periodo 2010–2013 y no se dispone de muestras silvestres y cautivas estrictamente contemporáneas, por lo que las comparaciones entre grupos deben tomarse con cautela (sección 7.1). Tampoco existe un programa de monitoreo genético a largo plazo, que permita evaluar los efectos del repoblamiento sobre la población silvestre. La literatura sobre conservación ha señalado, que la liberación continua de organismos cultivados sin un seguimiento genético adecuado puede comprometer la diversidad genética y la estructura de las poblaciones receptoras (Laikre *et al.*, 2010). En este sentido, el monitoreo genético temporal, mediante la evaluación periódica de la diversidad genética, la estructura poblacional y el tamaño efectivo poblacional, constituyen una herramienta esencial para evaluar el efecto de las acciones de manejo. Los marcadores y el panel generados en este estudio proporcionan la base para

establecer ese monitoreo y para sustentar, con evidencia genética, las estrategias de conservación, manejo y aplicación de la ley de la totoaba.

Finalmente, la gestión genética de la totoaba dispone hoy de un repertorio de herramientas complementarias más que sustitutas. Los 24 microsatélites de la NOM-169 constituyen el estándar legal vigente y siguen siendo la opción más costo-efectiva para volúmenes reducidos de muestras; el panel de 96 SNPs y los 120 microhaplotipos aportan mayor reproducibilidad, menores tasas de error y mejor transferencia entre laboratorios, con ventajas crecientes conforme aumenta el número de muestras; y el panel in silico posterior a una validación propuesto en este trabajo se distingue por integrar en un solo conjunto la reconstrucción de pedigrí y la asignación de origen, aplicaciones que hasta ahora se abordaban por separado. La elección entre ellas no es jerárquica sino contextual, y depende del objetivo analítico, del volumen de monitoreo y de la infraestructura disponible; su convergencia hacia plataformas de SNP estandarizadas será tanto más factible cuanto mayor sea la escala de genotipado rutinario que demanden las UMAs y las autoridades.

Más allá de sus atributos técnicos, su destino de estas herramientas no es la caracterización genética por sí misma, sino la generación de evidencia de origen fiable, estandarizada e interoperable entre las UMAs, los laboratorios y las autoridades, capaz de sostener una trazabilidad aplicada del recurso. En un contexto donde el producto legal y el ilegal son físicamente indistinguibles, es ahí donde la trazabilidad genética supera solo lo comercial para convertirse en una herramienta de conservación: al dar salida certificada a la producción legal, contribuye a reducir el incentivo económico de la pesca ilegal, alineando el aprovechamiento sustentable con la recuperación de la especie. El panel in silico desarrollado en este trabajo representa un paso en esa dirección, cuya consolidación dependerá de su validación en condiciones operativas y de la actualización continua de la línea base genética de referencia.

9. CONCLUSIONES

- ❖ La población silvestre de totoaba conserva una diversidad genética elevada y un tamaño efectivo poblacional grande, sin evidencia de estructura genética entre localidades del Golfo de California.
- ❖ Los reproductores mantenidos en las UMAs mostraron menor diversidad genética que la población silvestre, reducción progresiva de la riqueza alélica y de la heterocigosidad esperada entre generaciones, y tamaños efectivos poblacionales bajos. En conjunto, estos resultados sugieren pérdida de variación genética asociada a deriva, parentesco elevado y manejo reproductivo cerrado.
- ❖ Las UMAs mostraron diferenciación genética respecto a la población silvestre y entre sí, probablemente asociada al efecto fundador, al bajo número efectivo de reproductores y al manejo independiente de los lotes cautivos. Este resultado refuerza la necesidad de implementar estrategias de manejo genético que incluyan la incorporación planificada de nuevos reproductores silvestres, el intercambio controlado de material genético entre unidades y el monitoreo generacional del parentesco y la diversidad genética.
- ❖ El parentesco elevado dentro de las UMAs indica una estructura familiar marcada y una contribución reproductiva desigual entre familias. En UABC, la predominancia de una sola familia en la generación F2 es consistente con el bajo tamaño efectivo poblacional estimado y resalta la necesidad de balancear la contribución parental en futuras cruas.
- ❖ El conjunto de 4,992 SNPs permitió una asignación de origen altamente precisa, especialmente para los individuos silvestres. No obstante, la menor precisión en CREMES indica que la capacidad de asignación depende no solo del número de marcadores, sino también del grado de diferenciación genética entre los grupos de referencia.
- ❖ El panel reducido de 100 SNPs mostró un desempeño comparable al conjunto completo para la reconstrucción de pedigrí en ambas UMAs. Sin embargo, la cantidad de marcadores necesaria no fue uniforme, sino que dependió de la estructura familiar, el nivel de parentesco entre reproductores y la complejidad del pedigrí en cada plantel.
- ❖ El panel combinado de 150 SNPs conservó un desempeño de asignación de origen similar al del conjunto genómico completo y recuperó la estructura genética principal entre los grupos evaluados. Por ello, constituye un panel candidato de doble propósito, con potencial para

integrar en una misma herramienta la reconstrucción de pedigrí y la asignación genética de origen.

- ❖ El panel reducido de doble propósito representa una herramienta candidata para el manejo genético de las UMAs, la reconstrucción de pedigrí y la asignación genética de origen de *Totoaba macdonaldi*. Su potencial aplicación en trazabilidad y vigilancia requiere validación adicional en condiciones operativas, incluyendo plataformas de genotipificación dirigida, muestras comerciales y líneas base genéticas actualizadas.
- ❖ Los patrones de diferenciación genética, parentesco elevado y pérdida de variabilidad en las UMAs resaltan la necesidad de fortalecer el manejo reproductivo mediante la incorporación planificada de nuevos reproductores silvestres, el intercambio controlado de material genético entre unidades y el monitoreo generacional de la diversidad genética

10. LITERATURA CITADA

- Aceves-Bueno, E., Read, A. J. y Cisneros-Mata, M. A. (2021). Illegal fisheries, environmental crime, and the conservation of marine resources. *Conservation Biology*, 35(4), 1120–1129. doi: 10.1111/cobi.13674
- Ainis, A. F., Porcayo-Michelini, A., Vellanoweth, R. L. y Guía-Ramírez, A. (2021). Morphometric and stable isotope analysis of archaeological *Totoaba macdonaldi* otoliths, Baja California, México. *Quaternary International*, 595, 98–117. doi: 10.1016/j.quaint.2021.03.037
- Allendorf, F. W., Funk, W. C., Aitken, S. N., Byrne, M. y Luikart, G. (2022). *Conservation and the genetics of populations* (3rd ed.). Wiley-Blackwell.
- Anderson, E. C. y Garza, J. C. (2006). The power of single-nucleotide polymorphisms for large-scale parentage inference. *Genetics*, 172(4), 2567–2582. doi: 10.1534/genetics.105.048074
- Anderson, E. C. (2010). Assessing the power of informative subsets of loci for population assignment: standard methods are upwardly biased. *Molecular Ecology Resources*, 10(4), 701–710. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02846.x
- Andrews, S. (2010). *FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data* [Software]. Babraham Bioinformatics. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Andrews, K. R., Good, J. M., Miller, M. R., Luikart, G. y Hohenlohe, P. A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17(2), 81–92. doi: 10.1038/nrg.2015.28
- Beacham, T. D., Wallace, C., MacConnachie, C., Jonsen, K., McIntosh, B., Candy, J. R. y Withler, R. E. (2021). Parentage-based tagging combined with genetic stock identification is a cost-effective and viable replacement for coded-wire tagging in large-scale assessments of marine Chinook salmon fisheries in British Columbia, Canada. *Evolutionary Applications*, 14(5), 1365–1389. doi: 10.1111/eva.13203
- Bernatchez, L., Wellenreuther, M., Araneda, C., Ashton, D. T., Barth, J. M. I., Beacham, T. D., Maes, K. M., Martinsohn, J. T., Miller, K. M., Naish, K. A., Ovenden, J. R., Primmer, C. R., Suk, H. Y., Therkildsen, N. O. y Withler, R. E. (2017). Harnessing the power of genomics to secure the future of seafood. *Trends in Ecology y Evolution*, 32(9), 665–680. doi: 10.1016/j.tree.2017.06.010
- Boudry, P., Allal, F., Aslam, M. L., Bargelloni, L., Bean, T. P., Brard-Fudulea, S. y Vandeputte, M. (2021). Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries. *Aquaculture Reports*, 20, 100700. doi: 10.1016/j.aqrep.2021.100700
- Campbell, N. R., Harmon, S. A. y Narum, S. R. (2015). Genotyping-in-Thousands by sequencing (GT-seq): A cost-effective SNP genotyping method based on custom amplicon sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 15: 855–867. doi: 10.1111/1755-0998.12357
- Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A. y Cresko, W. A. (2013). Stacks: An analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*, 22(12), 3124–3140.
- Chen, K. Y., Marschall, E. A., Sovic, M. G., Fries, A. C., Gibbs, H. L. y Ludsin, S. A. (2018). assignPOP: An R package for population assignment using genetic, non-genetic, or integrated data in a machine-learning framework. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(3), 439–446. doi: 10.1111/2041-210X.12897

- Christie, M. R., Marine, M. L., French, R. A. y Blouin, M. S. (2012). Genetic adaptation to captivity can occur in a single generation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(1), 238–242. doi: 10.1073/pnas.1111073109
- Cisneros-Mata, M. A., Montemayor-López, G. y Román-Rodríguez, M. J. (1995). Life history and conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conservation Biology*, 9(4), 806–814.
- Cisneros-Mata, M. A., Román-Rodríguez, M. J., Rodríguez-Félix, D. y Castellanos-Rico, A. (2020). *Capítulo 4: Captura ilegal de totoaba*. In: Cisneros-Mata, M.A. (Ed.), Evaluación de la población de *Totoaba macdonaldi*. Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura, Mexico City, Mexico, pp. 37–48.
- Cisneros-Mata, M. A., True, K., Enríquez-Paredes, L. M., Sadovy, Y. y Liu, M. (2021). *Totoaba macdonaldi*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T22003A2780880*. International Union for Conservation of Nature. doi: 10.2305/IUCN.UK.2021-2.RLTS.T22003A2780880.en
- Clark, L. V. y Jasieniuk, M. (2011). polysat: an R package for polyploid microsatellite analysis. *Molecular Ecology Resources*, 11, 562–566. doi: 10.1111/j.1755-0998.2011.02985.x
- Curiel-Bernal, M. V., Aragón-Noriega, E. A., Cisneros-Mata, M. Á., Sánchez-Velasco, L., Jiménez-Rosenberg, S. P. A. y Parés-Sierra, A. (2021). Using observed residual error structure yields the best estimates of individual growth parameters. *Fishes*, 6(3), 35. doi: 10.3390/fishes6030035
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., McVean, G. y Durbin, R. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), 2156–2158. doi: 10.1093/bioinformatics/btr330
- del Mar Ochoa-Saloma, C., Jenkins, J. A., Segovia, M. A., Del Rio-Portilla, M. A. y Paniagua-Chávez, C. G. (2020). Establishing genome sizes of focal fishery and aquaculture species along Baja California, Mexico. *Conservation Genetics Resources*, 12(2), 301–309. doi: 10.1007/s12686-019-01105-y
- DeRaad, D. A. (2022). SNPfiltR: An R package for interactive and reproducible SNP filtering. *Molecular Ecology Resources*, 22(6), 2443–2453.
- Diario Oficial de la Federación [DOF]. (2010). *Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Diario Oficial de la Federación [DOF]. (2018). *Norma Oficial Mexicana NOM-169-SEMARNAT-2018, que establece los criterios y especificaciones para el manejo sustentable de la totoaba (Totoaba macdonaldi)*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Díaz-Arce, N. y Rodríguez-Ezpeleta, N. (2019). Selecting RAD-Seq data analysis parameters for population genetics: The more the better?. *Frontiers in Genetics*, 10, 533. doi: 10.3389/fgene.2019.00533
- Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J. y Ovenden, J. R. (2014). NeEstimator v2: Re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14(1), 209–214. doi: 10.1111/1755-0998.12157
- Doležel, J., Bartoš, J., Voglmayr, H. y Greilhuber, J. (2003). Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry Part A*, 51(2), 127–128. doi: 10.1002/cyto.a.10013
- Dunn, O. J. (1961). Multiple Comparisons among Means. *Journal of the American Statistical Association*, 56(293), 52–64. doi: [10.2307/2282330](https://doi.org/10.2307/2282330)

- Dussault, F. M. y Boulding, E. G. (2018). Effect of minor allele frequency on the number of single nucleotide polymorphisms needed for accurate parentage assignment: A methodology illustrated using Atlantic salmon. *Aquaculture Research*, 49(3), 1368–1372. doi: 10.1111/are.13566
- Enríquez-Paredes, L. M. y Victoria-Cota, N. L. (2023). Manejo genético de la producción de *Totoaba macdonaldi* en cautiverio con fines comerciales y de conservación. Prim. edición. 2023. ISBN: 978.
- Excoffier, L. y Lischer, H. E. L. (2015). Arlequin suite ver 3.5.2.2: A new series of programs to perform population genetics analyses. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567.
- Evanno, G., Regnaut, S. y Goudet, J., (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611–2620. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Flanagan, S. P. y Jones, A. G. (2019). The future of parentage analysis: from microsatellites to SNPs and beyond. *Molecular Ecology*, 28, 544–567. doi: 10.1111/mec.14988
- Foll, M. y Gaggiotti, O. (2008). A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180(2), 977–993.
- Foll, M. (2012). BayeScan v2.1 user manual. *Ecology*, 20, 10.
- Fountain, E. D., Pauli, J. N., Reid, B. N., Palsbøll, P. J. y Peery, M. Z. (2016). Finding the right coverage: The impact of coverage and sequence quality on single nucleotide polymorphism genotyping error rates. *Molecular Ecology Resources*, 16(4), 966–978. doi: 10.1111/1755-0998.12519
- Frankham, R. (1995). Conservation genetics. *Annual Review of Genetics*, 29, 305–327.
- Frankham, R., Bradshaw, C. J. A. y Brook, B. W. (2014). Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation*, 170, 56–63.
- García de León, F. J., Valles-Jiménez, R., Shaw, K., Ward, R., De-Anda-Montañez, J. A. y Martínez-Delgado, M. E. (2010). Characterization of fourteen microsatellite loci in the endemic and threatened totoaba (*Totoaba macdonaldi*) from the Gulf of California. *Conservation Genetics Resources*, 2, 219–221. doi: 10.1007/s12686-010-9271-9
- Goudet, J. (2005). hierfstat, a package for r to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*, 5, 184–186. doi: 10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x
- Graham, C. F., Glenn, T. C., McArthur, A. G., Boreham, D. R., Kieran, T., Lance, S., Manzon, R. G., Martino, J. A., Pierson, T., Rogers, S. M., Wilson, J. Y. y Somers, C. M. (2015). Impacts of degraded DNA on restriction enzyme associated DNA sequencing (RADSeq). *Molecular Ecology Resources*, 15(6), 1304–1315. doi: 10.1111/1755-0998.12404
- Hauser, L. y Carvalho, G. R. (2008). Paradigm shifts in marine fisheries genetics: Ugly hypotheses slain by beautiful facts. *Fish and Fisheries*, 9(4), 333–362. doi: 10.1111/j.1467-2979.2008.00299.x
- Hauser, L., Baird, M., Hilborn, R., Seeb, L. W. y Seeb, J. E. (2011). An empirical comparison of SNPs and microsatellites for parentage and kinship assignment in a wild sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) population. *Molecular Ecology Resources*, 11(s1), 150–161. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02961.x
- Holman, L. E., De la Serrana, D. G., Onoufriou, A., Hillestad, B. y Johnston, I. A. (2017). A workflow to design low-density SNP panels for parentage assignment and traceability in aquaculture

- species and its validation in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 476, 59–64. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.04.001
- Houston, R. D., Bean, T. P., Macqueen, D. J., Gundappa, M. K., Jin, Y. H., Jenkins, T. L., Selly, C. S. L., Martin, M. S. A., Stevens, J. R., Santos, E. M., Davie, A. y Robledo, D. (2020). Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. *Nature Reviews Genetics*, 21(7), 389–409. doi: 10.1038/s41576-020-0227-y
- Hu, Y., Chen, Q., Chen, J., Chen, W., Wang, J., Lin, H., Chen, G., Xiao, J., Lin, H., Feng, W. y Wang, J. (2025). From broodstock to progeny: Genetic variation in captive-bred F1 *Bahaba taipingensis* and its relevance to conservation release programs. *Diversity*, 17(10), 676. doi: 10.3390/d17100676
- Huisman, J. (2017). Pedigree reconstruction from SNP data: Parentage assignment, sibship clustering, and beyond. *Molecular Ecology Resources*, 17(6), 1009–1024.
- INEGI (2018). Marco Geoestadístico Nacional 2018. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México.
- Jamieson, I. G. y Allendorf, F. W. (2012). How does the 50/500 rule apply to MVPs? *Trends in Ecology y Evolution*, 27(10), 578–584. doi: 10.1016/j.tree.2012.07.001
- Jiang, L., Gao, X., Zhang, K., Xu, K., Zheng, J., Liu, L., Song, W., Chen, S. y Yan, X. (2025). Genomic differentiation between wild and domesticated populations of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*): Environmental impacts. *BMC Genomics*, 26, 1081. doi: 10.1186/s12864-025-12272-8
- Jombart, T., Devillard, S. y Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet*, 11, 94. doi: 10.1186/1471-2156-11-94
- Jombart, T. y Ahmed, I. (2011). adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27: 3070–3071.
- Jones, O. R. y Wang, J. (2010). COLONY: A program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 551–555. doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02787.x
- Konietschke, F., Placzek, M., Schaarschmidt, F. y Hothorn, L. A. (2015). nparcomp: an R software package for nonparametric multiple comparisons and simultaneous intervals (, S.). *Journal of Statistical Software*, 64(9), 1–17. doi: 10.18637/jss.v064.i09
- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A. y Mayrose, I. (2015). Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15, 1179–1191.
- Kriaridou, C., Tsairidou, S., Houston, R. D. y Robledo, D. (2020). Diversity arrays technology (DART) markers for genetic improvement of aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2020–2035. doi: 10.1111/raq.12429
- Laikre, L., Schwartz, M. K., Waples, R. S. y Ryman, N. (2010). Compromising genetic diversity in the wild: Unmonitored large-scale release of plants and animals. *Trends in Ecology y Evolution*, 25(9), 520–529. doi: 10.1016/j.tree.2010.06.013
- Lercari, D. y Chávez, E. A. (2007). Possible causes related to historic stock depletion of the totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Perciformes: Sciaenidae), endemic to the Gulf of California. *Fisheries Research*, 86(2–3), 136–142. doi: 10.1016/j.fishres.2007.05.001

- Lischer, L. E. H. y Excoffier, L. (2012). PGDSpider: an automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. *Bioinformatics*, 28(2), 298–299. doi: 10.1093/bioinformatics/btr642
- Liu, S., Palti, Y., Gao, G. y Rexroad, C. E. (2016). Development and validation of a SNP panel for parentage assignment in rainbow trout. *Aquaculture*, 452, 178–182. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.001
- Lorenzen, K., Beveridge, M. C. M. y Mangel, M. (2012). Cultured fish: Integrative biology and management of domestication and interactions with wild fish. *Biological Reviews*, 87(3), 639–660. doi: 10.1111/j.1469-185X.2011.00215.x
- Luu, K., Bazin, E. y Blum, M. G. B. (2017). pcadapt: An R package to perform genome scans for selection based on principal component analysis. *Molecular Ecology Resources*, 17(1), 67–77. doi: 10.1111/1755-0998.12592
- Manichaikul, A., Mychaleckyj, J. C., Rich, S. S., Daly, K., Sale, M. y Chen, W.-M. (2010). Robust relationship inference in genome-wide association studies. *Bioinformatics*, 26(22), 2867–2873. doi: 10.1093/bioinformatics/btq559
- Márquez-Farías, J. F. y Rosales-Juárez, F. J. (2013). Intrinsic rebound potential of the endangered (*Totoaba macdonaldi*) population endemic to the Gulf of California, México. *Fisheries Research*, 147, 150–153. doi: 10.1016/j.fishres.2013.05.009
- Mastretta-Yanes, A., Arrigo, N., Alvarez, N., Jorgensen, T. H., Piñero, D. y Emerson, B. C. (2015). Restriction site-associated DNA sequencing, genotyping error estimation and de novo assembly optimization for population genetic inference. *Molecular Ecology Resources*, 15(1), 28–41. doi: 10.1111/1755-0998.12291
- May, S. A., McKinney, G. J., Hilborn, R., Hauser, L. y Naish, K. A. (2020). Power of a dual-use SNP panel for pedigree reconstruction and population assignment. *Ecology and Evolution*, 10(17), 9522–9531. doi: 10.1002/ece3.6645
- Meirmans, P. G. (2020). GenoDive version 3.0: Easy-to-use software for the analysis of genetic data of diploids and polyploids. *Molecular Ecology Resources*, 20(4), 1126–1131. doi: 10.1111/1755-0998.13145
- Mejía-Ruiz, P., Perez-Enriquez, R., Andrew, S., Martínez-Rincón, R. O., Carlos-Garza, J., Mares-Mayagoitia, J. A. y Valenzuela-Quíñonez, F. (2023). A novel diagnostic SNP panel for fishery management of green abalone (*Haliotis fulgens*). *Fisheries Research*, 226, 106786. doi: 10.1016/j.fishres.2023.106786
- Milan, M., Maroso, F., Dalla Rovere, G., Carraro, L., Ferrareso, S., Patarnello, T. y Bargelloni, L. (2019). Tracing seafood at high spatial resolution using NGS-generated data and machine learning: Comparing microbiome versus SNPs. *Food Chemistry*, 286, 413–420. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.02.037
- Mroue-Ruiz, F. H., Pacheco-Sandoval, A., Lago-Lestón, A., Giffard-Mena, I., Abadía-Cardoso, A., Chong-Robles, J. y Schramm, Y. (2023). Metabarcoding used for the first time to identify prey of wild *Totoaba macdonaldi*. *Integrative and Comparative Biology*, 63(2), 276–287. doi: 10.1093/icb/icad030
- Nevárez-Martínez, M. O., González-Máynez, V. E., Valdez-Pelayo, A., Cisneros-Mata, M. A. y Villalobos, H. (2024). Target Strength and Biomass Estimation of *Totoaba* (*Totoaba Macdonaldi* Gilbert, 1981) in the Gulf of California, Mexico. doi: 10.2139/ssrn.4827658
- Nielsen, R., Paul, J. S., Albrechtsen, A. y Song, Y. S. (2011). Genotype and SNP calling from next-generation sequencing data. *Nature Reviews Genetics*, 12(6), 443–451. doi: 10.1038/nrg2986

- Nielsen, E., Cariani, A., Aoidh, E., Maes, G. E., Milano, I., Ogden, R., Taylor, M., Hemmer-Hansen, J., Babbucci, M., Bargelloni, L., Bekkevold, D., Diopere, E., Grefnell, L., Helyar, S., Limborg, M. T., Martinsohn, J. T., McEwing, R., Panitz, F., Patarnello, T., Tinti, F., Van Houdt, J. K. J., Volckaert, F. A. M., Waples, R. S., FishPop Trace consortium y Carvalho, G. R. (2012). Gene-associated markers provide tools for tackling illegal fishing and false eco-certification. *Nature Communications*, 3, 851. doi: 10.1038/ncomms1845
- Ogden, R. y Linacre, A. (2015). Wildlife forensic science: A review of genetic geographic origin assignment. *Forensic Science International: Genetics*, 18, 152–159. doi: 10.1016/j.fsigen.2015.02.008
- Paris, J. R., Stevens, J. R. y Catchen, J. M. (2017). Lost in parameter space: A road map for Stacks. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(10), 1360–1373. doi: 10.1111/2041-210X.12775
- Peterson, B. K., Weber, N. J., Kay, H. E., Fisher, S. H. y Hoekstra, E. H. (2012). Double Digest RADseq: An Inexpensive Method for De Novo SNP Discovery and Genotyping in Model and Non-Model Species. *PLoS One*, 7(5): e37135. doi: 10.1371/journal.pone.0037135
- Premachandra, H. K. A., Nguyen, N. H. y Knibb, W. (2019). Effectiveness of SNPs for parentage and sibship assessment in polygamous yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture*, 499, 24–31. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.09.022
- Pritchard, J. K., Stephens, M. y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959. doi: 10.1093/genetics/155.2.945
- Privé, F., Aschard, H., Ziyatdinov, A. y Blum, M. G. B. (2020). Efficient analysis of large-scale genome-wide data with two R packages: bigstatsr and bigsnpr. *Bioinformatics*, 34(16), 2781–2787. doi: 10.1093/bioinformatics/bty185
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I. W., Daly, M. J. y Sham, P. C. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559–575. doi: 10.1086/519795
- Puritz, J. B., Matz, M. V., Toonen, R. J., Weber, J. N., Bolnick, D. I. y Bird, C. E. (2014). Demystifying the RAD fad. *Molecular Ecology*, 23(24), 5937–5942. doi: 10.1111/mec.12965
- R Core Team. (2014). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rice, W. R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43(1), 223–225. doi: 10.2307/2409177
- Rochette, N. C. y Catchen, J. M. (2017). Deriving genotypes from RAD-seq short-read data using Stacks. *Nature Protocols*, 12(12), 2640–2659. doi: 10.1038/nprot.2017.123
- Rodríguez-García, O. U., Román-Rodríguez, M. J., Morales-Bojorquez, E., De Anda- Montañez, J. A., García-de-León, F. J. y Rivera-Rodríguez, L. B. (2020). New features on spatial distribution, age, and growth of the protected species *Totoaba macdonaldi* in the Gulf of California. *Biotechnia*, 22(3), 61–72.
- Rodríguez-Jaramillo, C., Valenzuela-Quíñonez, F., Balart, E. F., Palacios-Mechetnov, E., Méndez-Rodríguez, L. C., Román-Rodríguez, M. J. y De-Anda-Montañez, J. A. (2023). Reproductive biology of the totoaba (*Totoaba macdonaldi*), an endangered species in the Gulf of California. *Animal Reproduction Science*, 259, 107363. doi: 10.1016/j.anireprosci.2023.107363
- Rosenberg, N. A. (2004). DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4(1), 137–138. doi: 10.1046/j.1471-8286.2003.00566.x

- Sambrook, J., Fritsch, E. R. y Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed.). Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sherman, K. D., Paris, J. R., King, R. A., Moore, K. A., Dahlgren, C. P., Knowles, L. C., Stump, K., Tyler, C. R. y Stevens, J. R. (2020). RAD-seq analysis and in situ monitoring of Nassau grouper reveal fine-scale population structure and origins of aggregating fish. *Frontiers in Marine Science*, 7, 157. doi: 10.3389/fmars.2020.00157
- Tong, F., Zhang, L., Xu, S., Wang, X., Yan, W., Han, Z. y Gao, T. (2023). Development of an informative SNP panel for molecular parentage analysis in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture*, 575, 739656. doi: 10.1016/j.aquaculture.2023.739656
- Valenzuela-Quirñonez, F., Garza, J. C., De-Anda-Montañez, J. A. y García-de-León, F. J. (2014). Inferring past demographic changes in a critically endangered marine fish after fishery collapse. *ICES Journal of Marine Science*, 71(7), 1619–1628. doi: 10.1093/icesjms/fsu058
- Valenzuela-Quirñonez, F., Garza, J. C., Román-Rodríguez, M. J. y De-Anda-Montañez, J. A. (2015). Critically endangered totoaba (*Totoaba macdonaldi*): signs of recovery and potential threats after a population collapse. *Endangered Species Research*, 29, 1–11. doi: 10.3354/esr00693
- Valenzuela-Quirñonez, F., Arreguín-Sánchez, F., Salas-Márquez, S., García-De León, F. J., Garza, J. C., Román-Rodríguez, M. J. y De-Anda-Montañez, J. A. (2016). Genetic evidence of a single stock of the critically endangered totoaba in the Gulf of California. *Endangered Species Research*, 30, 19–31. doi: 10.3354/esr00723
- Vandeputte, M. y Haffray, P. (2014). Parentage assignment with genomic markers: A major advance for understanding and exploiting genetic variation of quantitative traits in farmed aquatic animals. *Frontiers in Genetics*, 5, 432. doi: 10.3389/fgene.2014.00432
- Vu, N. T., Jerry, D. R., Edmunds, R. C., Jones, D. B. y Zenger, K. R. (2023). Development of a global SNP resource for diversity, provenance, and parentage analyses on the indo- Pacific giant black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 563, 738890. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.738890
- Wang, J. (2012). Computationally efficient sibship and parentage assignment from multilocus marker data. *Genetics*, 191(1), 183–194. doi: 10.1534/genetics.111.138149
- Waples, R. S. (2010). High-grading bias: subtle problems with assessing power of selected subsets of loci for population assignment. *Molecular Ecology*, 19, 2599–2601.
- Waples, R. S. (2024). Practical application of the linkage disequilibrium method for estimating contemporary effective population size: A review. *Molecular Ecology Resources*, 24, e13879. doi: 10.1111/1755-0998.13879
- Weir, B. S. y Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6), 1358–1370. doi: 10.2307/2408641
- Wenne, R. (2023). Single nucleotide polymorphism markers with applications in conservation and exploitation of aquatic natural populations. *Animals*, 13(6), 1089. doi: 10.3390/ani13061089
- Williams, S. E. y Hoffman, E. A. (2009). Minimizing genetic adaptation in captive breeding programs: A review. *Biological Conservation*, 142(11), 2388–2400. doi: 10.1016/j.biocon.2009.05.034
- Willing, E.-M., Dreyer, C. y van Oosterhout, C. (2012). Estimates of genetic differentiation measured by F_{ST} do not necessarily require large sample sizes when using many SNP markers. *PLOS ONE*, 7(8), e42649. doi: 10.1371/journal.pone.0042649
- Yue, G. H. y Xia, J. H. (2014). Practical considerations of molecular parentage analysis in fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(2), 89–103. doi: 10.1111/jwas.12107

Zhao, H., Li, C., Hargrove, J. S., Bowen, B. R., Thongda, W., Zhang, D., Mohammed, H., Beck, B. H., Austin, J. D. y Peatman, E. (2018). SNP marker panels for parentage assignment and traceability in the Florida bass (*Micropterus floridanus*). *Aquaculture*, 485, 30–38. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.11.014

11. ANEXOS

Anexo A. Preparación de librerías ddRAD-seq descrito por Peterson et al., 2012 con modificaciones.

Las librerías ddRAD-seq se prepararon mediante una doble digestión del ADN genómico utilizando las enzimas de restricción EcoRI-HF y MspI (New England Biolabs®). Las digestiones se realizaron en un volumen de 30 µl con 500 ng de ADN, buffer CutSmart 1× y 10 U de cada enzima, incubándose durante toda la noche a temperatura ambiente. Los productos fueron purificados con perlas AMPure XP (Beckman Coulter®) en una proporción de 1.5× y eluidos en 30 µl de TE 0.1×.

Los fragmentos digeridos fueron ligados a dos adaptadores específicos. El adaptador P1 contenía el cebador de amplificación para Illumina, un barcode individual y la secuencia complementaria al sitio de corte de EcoRI-HF. El adaptador P2 contenía la secuencia complementaria al sitio de corte de MspI y fue común para todas las muestras. La ligación se realizó en un volumen de 40 µl con 30 µl de ADN digerido, buffer T4 ligasa 1×, 100 U de T4 DNA ligasa (New England Biolabs®) y 2 mM de cada adaptador. Las reacciones se incubaron durante toda la noche a temperatura ambiente. Los productos ligados fueron purificados con AMPure XP (1.5×) y eluidos en 30 µl de TE 0.1×. La correcta ligación se verificó mediante una PCR (PCR1) en un volumen de 12.5 µl con GoTaq® (Promega), 0.8 mM de cada cebador (Forward PCR1 y Reverse_MspI_P2) y 1 µl de ADN ligado. El programa consistió en una desnaturalización inicial de 95 °C por 2 min, seguida de 20 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 30 s y 72 °C por 45 s. Los productos fueron visualizados en geles de agarosa-Synergel al 2 %. Las muestras se cuantificaron mediante fluorometría en un Qubit™ 4 Fluorometer (Thermo Scientific®) y se agruparon en cuatro pools equimolares de 48 individuos con barcodes distintos. Cada pool fue concentrado con AMPure XP (1.5×) y eluido en 30 µl de TE 0.1×.

La selección de fragmentos entre 344 y 408 pb se realizó mediante Pippin Prep (Sage Science). Los fragmentos seleccionados fueron amplificados mediante una segunda PCR (PCR2) para enriquecer las librerías e incorporar índices y adaptadores de secuenciación. Para cada pool se realizaron ocho reacciones de 20 µl con buffer Phusion HF 1×, 0.5 U de ADN polimerasa Phusion® (New England Biolabs®), 0.5 mM de cada cebador (Forward PCR1 y Reverse PCR2_Idx_1,

PCR2_idx_2, PCR2_idx_3) y 3 µl de ADN. El programa consistió en una desnaturalización inicial de 95 °C por 2 min, seguida de 10 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 30 s y 72 °C por 45 s.

Los productos de PCR de cada pool fueron mezclados, purificados con AMPure XP (1.5×), eluidos en 40 µl y verificados en geles de agarosa-Synergel al 2 %. Posteriormente, cada pool fue cuantificado en Qubit™ 4 para preparar una mezcla equimolar final. La librería resultante fue secuenciada por NOVOGENE (Sacramento, California, EE. UU.) en dos carriles de Illumina HiSeq 4000 con lecturas paired-end de 150 pb.

Anexo B. Parametrización Stacks.

Para elegir la correcta combinación de parámetros y obtención de SNPs se realizaron 27 pruebas modificando un solo parámetro. Como primer paso, se evaluó el desempeño del módulo **denovo_map.pl** bajo diferentes combinaciones de los parámetros *-m*, *-M* y *-n*, analizando la profundidad promedio, el número de loci ensamblados y el número de SNPs obtenidos por individuo. La Fig. 22 muestra que la profundidad promedio aumentó conforme se incrementaron los valores de *-m* y *-M*, mientras que el parámetro *-n* no tuvo un efecto apreciable sobre esta variable.

En contraste, el número de loci ensamblados disminuyó a medida que aumentaron los valores de *-m* y *-n* (Fig. 23). De manera similar, el número de SNPs disminuyó al incrementar *-m*, aunque presentó un ligero aumento con valores mayores de *-n* (Fig. 23). El parámetro *-M* mostró un efecto mínimo sobre el número de loci y SNPs, ya que las tendencias observadas fueron prácticamente idénticas para los tres valores evaluados. En general, el incremento de *-m* de 3 a 4 produjo una reducción marcada en el número de loci ensamblados, mientras que la disminución fue menos pronunciada al aumentar *-m* de 4 a 5.

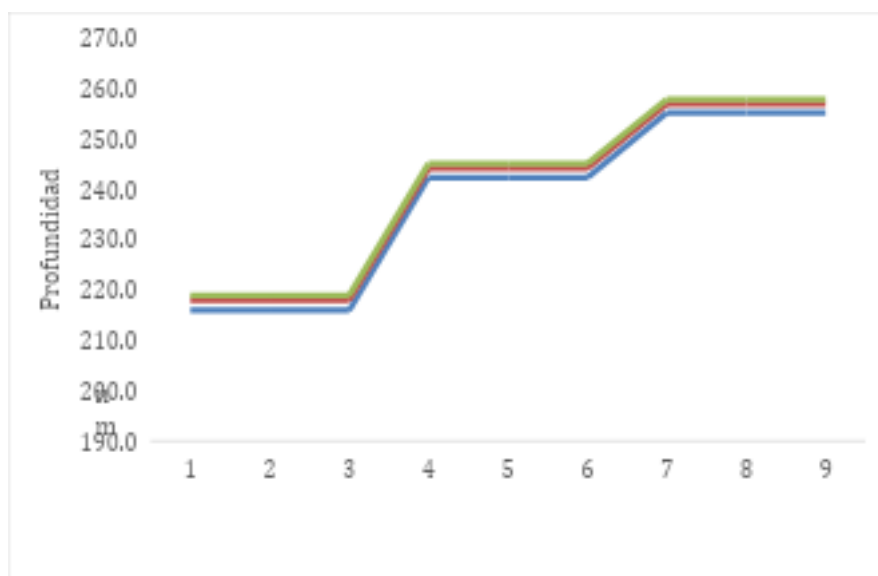


Figura 22. Efecto de los parámetros $-m$, $-M$ y $-n$ del módulo `denovo_map.pl` de Stacks sobre la profundidad promedio de secuenciación por individuo. Se evaluaron tres valores de $-m$ (3, 4 y 5), tres de $-n$ (3, 4 y 5) y tres de $-M$ (2, 3 y 4).

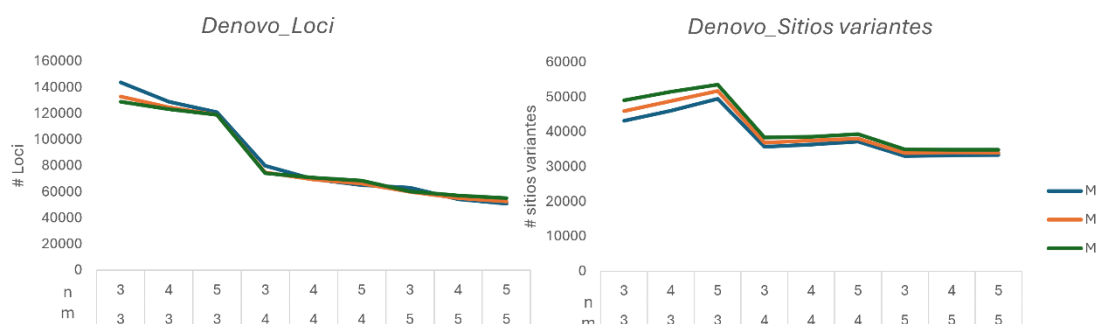


Figura 23. Efecto de los parámetros $-m$, $-M$ y $-n$ del módulo `denovo_map.pl` de Stacks sobre el ensamblaje *de novo*. **(A)** Número de loci ensamblados. **(B)** Número de sitios variantes (SNPs). Se evaluaron tres valores de $-m$ (3, 4 y 5), tres de $-n$ (3, 4 y 5) y tres de $-M$ (2, 3 y 4).

Anexo C. Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis.

Resultados de las pruebas no paramétricas de Kruskal–Wallis para la comparación de la heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), riqueza alélica (A_r) y coeficiente de endogamia (F_{is}) entre la población silvestre y las UMAs CREMES y UABC de *Totoaba macdonaldi*. Se muestran las comparaciones por pares obtenidas mediante la prueba post hoc de Dunn con ajuste para comparaciones múltiples. Los valores marcados con un asterisco (*) indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

Ho

Col Mean- Row Mean	CREMES	SILVESTR
SILVESTR	1.482468 0.2073	
UABC	5.652312 0.0000*	4.169844 0.0000*

alpha = 0.05

Reject Ho if p <= alpha/2

He

Col Mean- Row Mean	CREMES	SILVESTR
SILVESTR	-1.850612 0.0963	
UABC	9.435537 0.0000*	11.28615 0.0000*

alpha = 0.05

Reject Ho if p <= alpha/2

Ar

Col Mean- Row Mean	CREMES	SILVESTR
SILVESTR	4.501680 0.0000*	
UABC	12.94703 0.0000*	8.445352 0.0000*

alpha = 0.05

Reject Ho if p <= alpha/2

Fis

Col Mean- Row Mean	CREMES	SILVESTR
SILVESTR	-18.35441 0.0000*	
UABC	6.271761 0.0000*	24.45341 0.0000*

alpha = 0.05

Reject Ho if p <= alpha/2

Anexo D. Resultados completos de las precisiones de asignación con el conjunto genómico completo de 4,992 SNPs.

Se muestran los resultados por cada escenario (media y desviación estándar) para los esquemas silvestre contra UMAs combinadas y silvestre contra UMAs individuales, con y sin control por parentesco.

Tabla 7. Precisión media de asignación y desviación estándar (DE) para los individuos cautivos y silvestres de *Totoaba macdonaldi*.

loci	Ind. prop	Global		UMAs		Silvestre	
		media	DE	media	DE	media	DE
10%	0.8	0.89	0.05	0.84	0.10	0.94	0.07
	0.9	0.88	0.08	0.84	0.13	0.93	0.12
50%	0.8	0.94	0.04	0.88	0.08	1.00	0.01
	0.9	0.93	0.06	0.89	0.11	0.99	0.03
100%	0.8	0.94	0.04	0.88	0.08	1.00	0.00
	0.9	0.93	0.06	0.89	0.11	1.00	0.00

Tabla 8. Media y desviación estándar (DE) de la precisión de asignación entre individuos cautivos y silvestres de *Totoaba macdonaldi*, tras conservar únicamente un hermano por familia en el grupo cautivo.

loci	Ind. prop	Global		UMAs		Silvestre	
		media	DE	media	DE	media	DE
10%	0.8	0.86	0.06	0.58	0.17	1.00	0.00
	0.9	0.88	0.08	0.63	0.24	1.00	0.00
50%	0.8	0.89	0.05	0.68	0.16	1.00	0.00
	0.9	0.91	0.08	0.72	0.23	1.00	0.00
100%	0.8	0.89	0.05	0.68	0.16	1.00	0.00
	0.9	0.91	0.08	0.72	0.23	1.00	0.00

Tabla 9. Media y desviación estándar (DE) de la precisión de asignación de individuos de las UMAs CREMES y UABC, evaluadas por separado, frente a la población silvestre de *Totoaba macdonaldi*.

loci	Ind. Prop.	Global		CREMES		UABC		Silvestre	
		media	DE	media	DE	media	DE	media	DE
10%	0.8	0.91	0.05	0.74	0.17	0.90	0.09	1.00	0.00
	0.9	0.91	0.08	0.76	0.24	0.90	0.16	1.00	0.00
50%	0.8	0.93	0.04	0.80	0.15	0.90	0.09	1.00	0.00
	0.9	0.93	0.07	0.83	0.21	0.90	0.16	1.00	0.00
100%	0.8	0.92	0.04	0.79	0.14	0.90	0.09	1.00	0.00
	0.9	0.92	0.07	0.80	0.22	0.90	0.16	1.00	0.00

Tabla 10. Media y desviación estándar (DE) de la precisión de asignación de individuos de las UMAs CREMES y UABC, evaluadas por separado frente a la población silvestre de *Totoaba macdonaldi*, tras conservar un solo hermano por familia en cada UMA.

loci	Ind. Prop.	Global		CREMES		UABC		Silvestre	
		media	DE	media	DE	media	DE	media	DE
10%	0.8	0.90	0.05	0.41	0.26	0.52	0.34	1.00	0.01
	0.9	0.92	0.07	0.50	0.32	0.43	0.50	1.00	0.00
50%	0.8	0.92	0.05	0.69	0.25	0.64	0.35	1.00	0.00
	0.9	0.93	0.07	0.72	0.30	0.50	0.50	1.00	0.00
100%	0.8	0.92	0.04	0.68	0.25	0.62	0.36	1.00	0.00
	0.9	0.93	0.06	0.72	0.30	0.50	0.50	1.00	0.00

Anexo E. Reconstrucción de pedigrí por individuo, panel y escenario

Asignación parental y probabilidades de inclusión [Prob(Inc.)] y exclusión [Prob(Exc.)] obtenidas con COLONY para cada individuo descendiente, en cada tamaño de panel y respecto al conjunto de referencia de 4,992 SNPs. Los códigos de progenitor con asterisco (*n) o numeral (#n) corresponden a progenitores inferidos (putativos) no presentes entre los reproductores genotipados. El "Grupo" indica la familia asignada. Los cambios de asignación entre paneles respecto a la referencia reflejan las fallas de resolución de los paneles de menor tamaño.

Paneles de pedigrí específicos por UMA

Tabla 11. CREMES, transición F0 → F1 (paneles 100, 80, 60 y 40 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm15_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	0.9997
	Panel 80	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	0.4462
	Panel 60	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	0.4082
	Panel 40	*1	#1	1	0.2194	0.1331
Tm16_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497
Tm17_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497
Tm18_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497
Tm19_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497
Tm20_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497
Tm21_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	0.9997
	Panel 80	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	0.5800
	Panel 60	*1	#1	1	1.0000	0.2497
	Panel 40	*1	#1	1	0.2194	0.1331

Tm22_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497
Tm23_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497
Tm24_CRF1	4,992 (ref)	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.9996
	Panel 80	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.9997
	Panel 60	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.9776
	Panel 40	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.9148
Tm25_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9697	0.9697
	Panel 80	*1	Tm34_CRS	1	0.5838	0.5838
	Panel 60	*1	Tm34_CRS	1	0.5178	0.5178
	Panel 40	*1	Tm34_CRS	1	0.0497	0.0497

Tabla 12. CREMES, transición F1 → F2 (paneles 100, 80, 60 y 40 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm01_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm02_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm03_CRF2	4,992 (ref)	*2	#2	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*2	#2	1	1.0000	0.9956
	Panel 80	*2	#2	1	1.0000	0.9903
	Panel 60	*2	#2	1	1.0000	0.9644
	Panel 40	*2	Tm25_CRF1	2	1.0000	0.8010
Tm04_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm05_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm06_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	Tm15_CRF1	#1	1	1.0000	0.0143

	Panel 40	Tm15_CRF1	#1	1	1.0000	0.0642
Tm07_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm08_CRF2	4,992 (ref)	*2	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#2	1	1.0000	0.9928
	Panel 80	*2	#1	1	1.0000	0.9889
	Panel 60	*2	#1	1	1.0000	0.9532
	Panel 40	*2	#2	2	1.0000	0.8050
Tm09_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm10_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm11_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	0.9893	0.9893
	Panel 80	*1	#1	1	0.9807	0.9807
	Panel 60	*1	#1	1	0.5701	0.1023
	Panel 40	*1	#1	1	0.9419	0.4896
Tm12_CRF2	4,992 (ref)	*3	#3	2	1.0000	1.0000
	Panel 100	*3	#3	2	1.0000	1.0000
	Panel 80	*3	#3	2	1.0000	1.0000
	Panel 60	*3	#2	1	1.0000	0.9951
	Panel 40	*3	#3	3	1.0000	0.9998
Tm13_CRF2	4,992 (ref)	*4	#4	3	1.0000	1.0000
	Panel 100	*4	#4	3	1.0000	1.0000
	Panel 80	*2	#4	1	1.0000	0.9989
	Panel 60	*2	#3	1	1.0000	0.9979
	Panel 40	*2	#4	2	1.0000	0.9867

Tabla 13. UABC, transición F0 → F1 (paneles 100, 80, 60 y 40 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm40_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm41_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm42_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000

	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm43_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm44_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm45_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm46_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm48_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Panel 40	*1	#1	1	0.9994	0.9994
Tm47_UAF1	4,992 (ref)	*2	#2	2	1.0000	1.0000
	Panel 100	*2	#2	2	1.0000	0.9588
	Panel 80	*2	#2	2	1.0000	0.9992
	Panel 60	*2	#2	2	1.0000	0.9997
	Panel 40	*2	#2	2	1.0000	0.9951
Tm49_UAF1	4,992 (ref)	*3	#3	3	1.0000	1.0000
	Panel 100	*3	#3	3	1.0000	0.9588
	Panel 80	*3	#3	3	1.0000	0.9992
	Panel 60	*3	#3	3	1.0000	0.9997
	Panel 40	*3	#3	3	1.0000	0.9950

Tabla 14. UABC, transición F1 → F2 (paneles 100, 80, 60 y 40 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm50_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.6657	0.2803
Tm51_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.1485
Tm52_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000

	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.3985	0.0540
Tm53_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.7570	0.2324
Tm54_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.2866
Tm55_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.8543	0.4959
Tm56_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.2189
Tm57_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.0983
Tm58_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.0190
Tm59_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*2	#2	2	1.0000	0.9790
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.6022
Tm61_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.6223	0.1382
Tm62_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.1808
Tm63_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771

	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.1559
Tm64_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.8543	0.4959
Tm65_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.0700	0.0091
Tm66_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.6223	0.1382
Tm67_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.6657	0.2803
Tm68_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*2	#2	2	1.0000	0.9790
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.6022
Tm69_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.7069
Tm70_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.0677
Tm72_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.0700	0.0091
Tm74_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.8543	0.4959
Tm75_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	0.7570	0.2324
Tm76_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000

Tm77_UAF2	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.3230
	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
Tm78_UAF2	Panel 40	*1	#1	1	0.3985	0.0540
	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 80	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Panel 60	*1	#1	1	0.9946	0.9771
	Panel 40	*1	#1	1	1.0000	0.1664
Tm60_UAF2	4,992 (ref)	*2	#2	2	1.0000	1.0000
	Panel 100	*2	#2	2	1.0000	0.8158
	Panel 80	*2	#2	2	0.8158	0.8158
	Panel 60	*3	#3	3	0.8129	0.8129
	Panel 40	*1	#1	1	0.8639	0.2815
Tm71_UAF2	4,992 (ref)	*2	#2	2	1.0000	1.0000
	Panel 100	*2	#2	2	1.0000	0.8159
	Panel 80	*2	#2	2	0.8158	0.8158
	Panel 60	*3	#3	3	0.8129	0.8129
	Panel 40	*1	#1	1	0.8639	0.2815

Panel de pedigrí dual (compartido entre UMAs)

Tabla 15. CREMES, transición FO → F1 (panel dual 40, 60, 80 y 100 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm15_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	1.0000	0.4506
	Dual 60	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	0.5199
	Dual 80	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	0.5362
	Dual 100	*1	Tm33_CRS	1	1.0000	0.8887
Tm16_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831
	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792
Tm17_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831
	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792
Tm18_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831
	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792
Tm19_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831

	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792
Tm20_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831
	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792
Tm21_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	0.2417
	Dual 60	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	0.5240
	Dual 80	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	0.5379
	Dual 100	*1	Tm29_CRS	1	1.0000	0.8907
Tm22_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831
	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792
Tm23_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831
	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792
Tm24_CRF1	4,992 (ref)	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.8990
	Dual 60	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.8151
	Dual 80	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.8145
	Dual 100	*2	Tm34_CRS	1	1.0000	0.8688
Tm25_CRF1	4,992 (ref)	*1	Tm34_CRS	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm34_CRS	1	0.7566	0.7030
	Dual 60	*1	Tm34_CRS	1	0.9831	0.9831
	Dual 80	*1	Tm34_CRS	1	0.9943	0.9943
	Dual 100	*1	Tm34_CRS	1	0.9792	0.9792

Tabla 16. CREMES, transición F1 → F2 (panel dual 40, 60, 80 y 100 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm01_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9365	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm02_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9366	0.9214
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm03_CRF2	4,992 (ref)	*2	#2	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#2	1	1.0000	0.9213
	Dual 60	*2	#2	1	1.0000	0.9991
	Dual 80	*2	#2	1	1.0000	0.9992
	Dual 100	*2	#2	1	1.0000	0.9998
Tm04_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100

	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9362	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm05_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9363	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm06_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9364	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm07_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9365	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm08_CRF2	4,992 (ref)	*2	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#1	1	1.0000	0.2120
	Dual 60	*2	#1	1	1.0000	0.1734
	Dual 80	*1	#2	1	1.0000	0.9365
	Dual 100	*2	#1	1	1.0000	0.9864
Tm09_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9363	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm10_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9364	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm11_CRF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.7100	0.7100
	Dual 60	*1	#1	1	0.3515	0.3515
	Dual 80	*1	#1	1	0.9365	0.9213
	Dual 100	*1	#1	1	0.9864	0.9864
Tm12_CRF2	4,992 (ref)	*3	#3	2	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#3	1	1.0000	0.9864
	Dual 60	*3	#3	2	1.0000	0.9998
	Dual 80	*3	#3	2	1.0000	1.0000
	Dual 100	*3	#3	2	1.0000	1.0000
Tm13_CRF2	4,992 (ref)	*4	#4	3	1.0000	1.0000
	Dual 40	*3	#1	1	1.0000	0.6963
	Dual 60	*4	#1	1	1.0000	0.9377
	Dual 80	*1	#4	1	1.0000	0.9975
	Dual 100	*4	#4	3	1.0000	0.8526

Tabla 17. UABC, transición F0 → F1 (panel dual 40, 60, 80 y 100 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm40_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm41_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm42_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm43_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm44_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm45_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm46_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm48_UAF1	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#1	1	0.9964	0.9964
	Dual 60	*1	#1	1	0.9996	0.9996
	Dual 80	*1	#1	1	0.9999	0.9999
	Dual 100	*1	#1	1	0.9999	0.9999
Tm47_UAF1	4,992 (ref)	*2	#2	2	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#2	2	1.0000	0.9961
	Dual 60	*2	#2	2	1.0000	0.9998
	Dual 80	*2	#2	2	1.0000	1.0000
	Dual 100	*2	#2	2	1.0000	1.0000
Tm49_UAF1	4,992 (ref)	*3	#3	3	1.0000	1.0000
	Dual 40	Tm37_UAS	#3	3	1.0000	0.9960
	Dual 60	*3	#3	3	1.0000	0.9998
	Dual 80	*3	#3	3	1.0000	1.0000
	Dual 100	*3	#3	3	1.0000	1.0000

Tabla 18. UABC, transición F1 → F2 (panel dual 40, 60, 80 y 100 SNPs).

Individuo	Panel	Padre	Madre	Grupo	Prob(Inc.)	Prob(Exc.)
Tm50_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm40_UAF1	1	0.7212	0.6542
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm51_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#1	1	0.2316	0.0227
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm52_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	Tm42_UAF1	#2	1	1.0000	0.0464
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm53_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*3	#2	1	1.0000	0.2161
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm54_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*4	#3	1	1.0000	0.6449
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm55_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#1	1	0.2316	0.0227
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm56_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	Tm40_UAF1	1	0.7212	0.6542
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm57_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*4	#1	1	0.5991	0.1470
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm58_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*3	#1	1	1.0000	0.2167
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm59_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*3	#4	1	1.0000	0.9012
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000

Tm61_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*4	#1	1	0.5991	0.1470
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm62_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#4	1	0.8175	0.1907
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm63_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	Tm42_UAF1	#1	1	0.4357	0.1886
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm64_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	Tm42_UAF1	#1	1	0.4357	0.1886
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm65_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	Tm42_UAF1	#1	1	0.4357	0.1886
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm66_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*4	#1	1	0.5991	0.1470
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm67_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*1	#2	1	1.0000	0.0930
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm68_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*3	#4	1	1.0000	0.9012
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm69_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#4	1	0.8175	0.1907
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm70_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*5	#4	1	0.9771	0.9002
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm72_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*6	#4	1	0.9771	0.9002
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974

	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm74_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*6	#2	1	1.0000	0.2389
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm75_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#3	1	0.7724	0.3190
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm76_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*6	#6	1	1.0000	0.3526
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm77_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	Tm42_UAF1	#6	1	1.0000	0.2349
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm78_UAF2	4,992 (ref)	*1	#1	1	1.0000	1.0000
	Dual 40	*2	#3	1	0.7724	0.3190
	Dual 60	*1	#1	1	0.9974	0.9974
	Dual 80	*1	#1	1	0.9997	0.9997
	Dual 100	*1	#1	1	1.0000	1.0000
Tm60_UAF2	4,992 (ref)	*2	#2	2	1.0000	1.0000
	Dual 40	*5	#5	1	1.0000	0.3519
	Dual 60	*2	#2	2	0.9721	0.9721
	Dual 80	*2	#2	2	0.8741	0.8741
	Dual 100	*2	#2	2	0.9150	0.9150
Tm71_UAF2	4,992 (ref)	*2	#2	2	1.0000	1.0000
	Dual 40	*5	#5	1	1.0000	0.5242
	Dual 60	*2	#2	2	0.9721	0.9721
	Dual 80	*2	#2	2	0.8741	0.8741
	Dual 100	*2	#2	2	0.9150	0.9150

Anexo F. Resultados completos de las precisiones de asignación de los paneles reducidos de trazabilidad y de los paneles combinados.

Se muestran los resultados de cada uno de los escenarios (media y desviación estándar) por tamaño de panel, para los escenarios de dos grupos (cautivo contra silvestre) y de tres grupos (silvestre, CREMES y UABC).

Tabla 19. Media y desviación estándar (DE) de la precisión de asignación de origen para individuos cautivos y silvestres de *Totoaba macdonaldi*.

loci	Ind. prop	Global		UMAs		Silvestre	
		media	DE	media	DE	media	DE
Panel_50	0.75	0.671	0.091	0.578	0.195	0.779	0.285
	0.8	0.678	0.098	0.523	0.176	0.858	0.231
Panel_100	0.75	0.656	0.085	0.528	0.181	0.803	0.243
	0.8	0.656	0.088	0.529	0.187	0.805	0.252
Panel_150	0.75	0.841	0.079	0.8	0.138	0.887	0.132
	0.8	0.847	0.081	0.82	0.153	0.878	0.138
Panel_200	0.75	0.88	0.07	0.835	0.122	0.931	0.108
	0.8	0.854	0.09	0.804	0.136	0.912	0.149
Panel_Global_150	0.75	0.893	0.043	0.832	0.076	0.957	0.05
	0.8	0.895	0.055	0.83	0.099	0.969	0.051
Panel_Global_200	0.75	0.893	0.047	0.826	0.093	0.964	0.048
	0.8	0.9	0.048	0.844	0.082	0.965	0.052

Tabla 20. Media y desviación estándar (DE) de la precisión de asignación de origen para individuos de las UMAs CREMES y UABC, evaluadas por separado, frente a la población silvestre de *Totoaba macdonaldi*.

Loci	Ind. prop	Global		CREMES		UABC		Silvestre	
		media	DE	media	DE	media	DE	media	DE
Panel_50	0.75	0.733	0.056	0.15	0.181	0.876	0.144	0.964	0.082
	0.8	0.748	0.073	0.157	0.209	0.893	0.156	0.947	0.121
Panel_100	0.75	0.83	0.071	0.5	0.213	0.862	0.132	0.996	0.024

Panel_150	0.8	0.85	0.069	0.53	0.251	0.88	0.161	0.99	0.046
	0.75	0.887	0.062	0.69	0.222	0.886	0.137	1	0
Panel_200	0.8	0.886	0.08	0.683	0.257	0.868	0.148	1	0
	0.75	0.898	0.067	0.763	0.202	0.862	0.15	1	0
Panel_Global_150	0.8	0.904	0.065	0.777	0.222	0.855	0.164	1	0
	0.75	0.894	0.04	0.673	0.147	0.901	0.085	0.995	0.017
Panel_Global_200	0.8	0.903	0.049	0.697	0.158	0.914	0.092	0.992	0.024
	0.75	0.904	0.04	0.716	0.146	0.891	0.084	0.999	0.006
	0.8	0.906	0.05	0.722	0.162	0.89	0.107	1	0