

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



**“Análisis de diversidad y estructura genética  
de la corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) de las costas de la  
Península de Baja California (México) y California (EE.UU.)  
como primera aproximación para evaluar el impacto de su  
programa de repoblación”**

**TESIS PROFESIONAL**  
**Que como requisito parcial**  
**para obtener el título de**  
**OCEANÓLOGO**  
**Presenta**

**Karla Ríos Medina**

**Ensenada, Baja California**

**Junio del 2008**

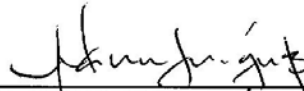
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**

"ANÁLISIS DE DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA  
DE LA CORVINA BLANCA (*Atractoscion nobilis*) DE LAS COSTAS DE  
LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA (MÉXICO) Y CALIFORNIA (EE.UU.)  
COMO PRIMERA APROXIMACIÓN PARA EVALUAR EL IMPACTO DE SU  
PROGRAMA DE REPOBLACIÓN"

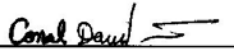
**TESIS PROFESIONAL QUE PRESENTA:**

**KARLA RÍOS MEDINA**

**APROBADA POR:**



**DR. LUIS MANUEL ENRÍQUEZ PAREDES**  
Director de Tesis



**M.C. CONAL DAVID TRUE**  
Sinodal



**M.C. ROBERTO ESCOBAR FERNÁNDEZ**  
Sinodal

## **DEDICATORIA**

A mi abuelo Luis Humberto Medina, por haberme enseñado que en la vida hay que luchar con amor, fuerza y dedicación hasta alcanzar lo que uno quiere.

A mi abuela Lupita Chávez, por dejar impresa en la familia la huella de la magia.

## AGRADECIMIENTOS

- A mi director de tesis Dr. Luis Enríquez Paredes, porque a pesar de tener muchas responsabilidades y como consecuencia nulo tiempo de sobra, aceptó dirigirme haciendo milagros con su tiempo y así, sacar adelante este trabajo. Luis, te agradezco infinitamente por brindarme tu apoyo y porque durante el desarrollo de esta tesis, me enseñaste muchísimo como maestro, logrando transmitirme tu gran pasión por la Genética Molecular y como persona, ofreciéndome siempre tu amistad.
- A mis dos sinodales M.C. Conal David True y M.C. Roberto Escobar Fernández, por haber aceptado formar parte de mi comité y por haberme aportado valiosos comentarios dándole mayor riqueza al presente estudio.
- Al grupo de corvina blanca del Instituto Hubs-Seaworld, por haber proporcionado las muestras con las que pude realizar este trabajo.
- Al Dr. Jorge de la Rosa (†) y a los Cheos, por haberme alentado e impulsado a realizar una tesis a pesar de las facilidades de titulación que ahora existen.
- A mi padre, por todo lo que me ha dado y más aun por todo lo que no me ha dado porque eso me ha hecho ser una mujer fuerte e independiente.
- A mis tías y hermanos porque cada uno de ellos ha alegrado de forma particular mi vida.
- Al grupo del laboratorio de Ecología Molecular, porque desde que llegue, me abrieron las puertas a su gran familia brindándome su amistad y apoyo.
- A todos mis amigos que han estado siempre presentes a pesar de la distancia (A todos aquellos que viven en el centro-sur del país) o la no distancia (A todos los que como yo siguen en tierras Ensenadenses).

- Finalmente y muy especialmente a mi madre, compañera y amiga, por su infinito apoyo y amor incondicional. Me permito citar algunos versos en consentimiento de mi hermana que es la autora, pues no existen mejores palabras que describan lo que eres y representas para nosotros tus hijos:

Madre que nos enseñaste a adorar el mar, el atardecer,  
la luna, las estrellas, el campo.

Tu madre de tierra que floreces y te marchitas,  
madre de agua que atraviesas olas y pantanos,  
madre que escupe fuego y se mantiene ardiendo,  
madre de aire que vuelas por los vientos a donde gire la brújula,  
desde tus adentros nos engendraste con tu cuerpo,  
con tu vida, con tus nostalgias y alegrías, con tu sabiduría.

Tu vida de magia y misticismo,  
la vida de dolor y alegría en un solo soplo,  
el soplo de tu vientre, de tus entrañas,  
madre mariposa que has permitido  
que destrocemos nuestro capullo,  
que nos azotemos en los muros de la verdad,  
que riamos de nuestros lamentos, que lloremos de nuestras alegrías,  
¿eres un hada? ¿eres humana?  
Eres nuestra madre.

¿Por que llorar?, ¿Por que sufrir?,  
¿Por que amar?, ¿Por que reir?  
¿Por que madre?  
Así es la vida.  
¿Por que vivir?  
Por que la vida es hermosa.

Así es madre, la vida es hermosa, gracias a ti, gracias  
a ti lo sabemos, desde que tu vientre nos empujo a la vida.

## RESUMEN

Basado en el decremento de los volúmenes de desembarque de corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) desde finales de los años veintes del siglo pasado, se ha sugerido que los niveles de abundancia de esta especie han sido afectados tanto por causas naturales (p.e. ENSO, PDO, etc.) como antropogénicas (p.e. sobre-explotación, deterioro del hábitat, etc.). Esta problemática es de particular interés para el gobierno de los Estados Unidos de América (EE.UU.) ya que la corvina blanca es un importante recurso para la pesca comercial y deportiva en las costas de California. Como alternativa para incrementar la abundancia de la especie, se promovió desde principios de los años 80's el desarrollo de un plan de repoblación con organismos de cultivo en el Instituto "Hubbs-SeaWorld". Sin embargo, la estrategia de repoblación puede tener como principal consecuencia negativa la dilución de diversidad genética en las poblaciones silvestres; tal ha sido el caso para especies como el salmón y la trucha. Aunque la corvina blanca se distribuye desde Alaska hasta Baja California Sur, existe controversia acerca de los límites y la conectividad entre sus stocks y la intensidad del flujo genético entre estos; parámetros clave para evaluar el impacto del programa de repoblación sobre las poblaciones silvestres y para el adecuado manejo del mismo. Es por ello que en el presente estudio se evaluó, a través de los niveles de diversidad genética, la conectividad entre los organismos que se distribuyen en la costa occidental de la Península de Baja California y de California. El análisis de las secuencias de ADN mitocondrial detectó niveles de diversidad genética mayores a los esperados para una especie intensamente explotada e indican, por el contrario, que la población es demográficamente estable y abundante. A pesar de que no se encontró evidencia de estructura genética, la ocurrencia de haplotipos exclusivos de cada localidad sugiere que la población de corvina blanca podría encontrarse en proceso de diferenciación, o bien que en algún momento de su historia evolutiva haya estado estructurada. Los altos niveles de diversidad genética en una población aparentemente continua no son congruentes con el colapso que se ha atribuido a la sobrepesca de esta especie en las costas de California. Las fluctuaciones históricas en la abundancia de corvina blanca parecen estar más relacionadas con cambios en la disponibilidad del recurso en respuesta al efecto combinado de eventos oceanográficos a gran escala (PDO y ENSO), escenario que explicaría también la alta diversidad genética y la ausencia de estructura poblacional. La información aquí obtenida es relevante por el hecho de que, los indicios de diferenciación genética y las amplias fluctuaciones en la disponibilidad de la especie resaltan la necesidad de usar marcadores genéticos con una resolución temporal de menor escala (p.e. microsátélites) para el seguimiento del programa de repoblación y de sus efectos sobre la población natural con la finalidad de establecer una estrategia adecuada de manejo que permita el uso sustentable de este recurso pesquero.

## ABSTRACT

Based on the decline of white seabass (*Atractoscion nobilis*) catches at the end of the 1920's, it has been speculated that the abundance of this species has been affected both by natural (i.e. ENSO, PDO) and anthropogenic causes (i.e. over-fishing, habitat degradation). This problem is of particular interest to the United States of America due to the fact that white seabass represents an important resource for the commercial and sport fishing industry along the coast of California. In the early 1980's, the Hubbs-SeaWorld Institute developed a repopulation program as an alternative to increase the abundance of this fish stocks. However, repopulation strategies can have a negative diluting effect on the genetic diversity of wild populations as it has been demonstrated for other species (i.e. salmon and trout). Even though white seabass has a range that goes from Alaska to Baja California Sur, there is some controversy about the limits and the intensity of gene flow between stocks; key parameters for both the evaluation of the impact of the repopulation program on the wild populations and a better fishery management program. For these reasons, the goal of the present research was to evaluate the genetic diversity and connectivity among white seabass populations found along the western coast of the peninsula of Baja California and California. Sequencing of the mitochondrial DNA control region detected higher levels of genetic diversity than expected for an overexploited species, conversely indicating that the population is demographically stable and abundant. Despite no evidence of genetic structure was found, the occurrence of exclusive haplotypes at each location suggests that the population between Baja California and California could be developing genetic differentiation, or that genetic structure may have occurred sometime along the evolutionary history of the species. High levels of genetic diversity in an apparently continuous population are not consistent with a collapse due to over fishing. Historical fluctuations on white seabass abundance seem to be a consequence of changes in the availability of the stocks related to large-scale oceanographic events (PDO and ENSO); a scenario that could also be explaining the high genetic diversity and the lack of population structure. The information obtained here is of great relevance due to the fact that, the indications of a genetic separation emphasizes the need to utilize higher resolution, genetic markers than can explain variation at a smaller time scale (i.e. microsatellites) in order to better the management strategy of the repopulation program and sustainable use of this fishery resource.

# CONTENIDO

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN .....	vi
ABSTRACT .....	vii
CONTENIDO.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABLAS .....	xi
LISTA DE ANEXOS.....	xiii
INTRODUCCIÓN .....	1
ANTECEDENTES.....	4
HIPÓTESIS .....	9
OBJETIVOS.....	9
Objetivo General.....	9
Objetivos Particulares.....	9

<b>ÁREA DE ESTUDIO .....</b>	<b>10</b>
<b>Localidad 1: California (EE.UU.).....</b>	<b>11</b>
<b>Localidad 2: Baja California (México) .....</b>	<b>11</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>12</b>
<b>I. Trabajo de Campo (Colecta de Muestras) .....</b>	<b>12</b>
<b>II. Trabajo de Laboratorio.....</b>	<b>13</b>
i. Extracción del ADN .....	13
ii. Amplificación parcial de la región control de ADNmt (PCR).....	13
iii. Secuenciación .....	14
iv. Edición de las secuencias .....	15
<b>III. Trabajo de Gabinete (Análisis Estadístico) .....</b>	<b>16</b>
i Número y frecuencia de haplotipos mitocondriales.....	16.
ii. Diversidad genética.....	16
iii. Filogenia intraespecífica .....	16
iv. Estructura genética .....	17
v. Historia demográfica .....	17
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>19</b>
<b>I. Variabilidad Genética.....</b>	<b>19</b>
<b>II. Distancia Genética Molecular.....</b>	<b>23</b>
<b>III. Estructura Genética.....</b>	<b>25</b>
<b>IV. Demografía histórica .....</b>	<b>27</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>32</b>
<b>Recomendaciones:.....</b>	<b>39</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>41</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>42</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área de estudio.....	10
Figura 2. Árbol filogenético linearizado de los linajes mitocondriales de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC) y California, EE.UU. (CC)..	24
Figura 3. Red de la mínima dispersión (MSN) para los linajes mitocondriales de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California (México) y California (EE.UU.).....	25
Figura 4. Distribución de diferencias pareadas observadas con las esperadas, bajo un escenario de expansión demográfica de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC). .....	28
Figura 5. Dispersión bidimensional de acuerdo a los valores canónicos generados en el análisis discriminante..	31
Figura 6. Serie de tiempo comparativa de los fenómenos oceanográficos del Océano Pacífico Nororiental y la captura en kg de corvina blanca..	38

## LISTA DE TABLAS

Tabla I. Secuencia nucleotídica de la porción de la región control mitocondrial de la corvina blanca.....	19
Tabla II. Sitios variables y frecuencia relativa de los haplotipos mitocondriales de la corvina blanca observados para la costa occidental de la Península de Baja California, México (BC) y la costa de California, EE.UU. (CC).....	21
Tabla III. Polimorfismo de la región control mitocondrial y diversidad genética de la corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC). ....	22
Tabla IV. Valores obtenidos de los distintos índices de diferenciación en el examen de estructura genética de las muestras de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC). ....	26
Tabla V. Valores de SSD (Sumatory of square differences) y sus correspondientes valores de significancia, de las muestras de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC).....	28
Tabla VI. Valores del índice <i>D</i> de Tajima y los correspondientes valores de significancia estadística para la población de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC).....	29

Tabla VII. Historias demográficas inferidas a partir de los valores de diversidad genética en poblaciones de peces. Tomado de Grant y Bowen (1998).....	30
Tabla VIII. Matriz de clasificación del análisis discriminante para valores de diversidad genética en diversas especies de peces marinos. ....	31

## LISTA DE ANEXOS

Anexo I.....	49
Anexo II.....	51

## INTRODUCCIÓN

El océano desempeña un papel de gran importancia como fuente de recursos alimenticios en la vida de la humanidad. La fauna marina es tan rica y basta, que el agua oceánica alberga cerca de 180,000 especies de animales, entre ellas alrededor de 16,000 variedades de peces (Marcano, 2007). Desde principios de la historia, la comunidad primitiva utilizaba los recursos biológicos para consumo propio.

En la medida en que el desarrollo científico-técnico se hizo más efectivo las posibilidades de explotación de los recursos aumentaron considerablemente, impactando en forma negativa a numerosas especies de peces. La conservación de estas especies es de vital importancia, pues además de representar un recurso para el consumo humano, constituyen un eslabón trófico clave en las comunidades acuáticas, en donde desempeñan un papel primordial en el funcionamiento integral de la biosfera (Bruton, 1995).

Tanto la comunidad científica como las asociaciones gubernamentales y no gubernamentales, reconocen que las pesquerías de todo el mundo están experimentando una rápida transición de poblaciones estables a sobre-explotadas. De acuerdo con Harvey (2001), alrededor del 44% de pesquerías marinas a nivel mundial se encuentran sobre-explotadas. Además, no existe suficiente información sobre la biología y dinámica poblacional de la mayor parte de las pesquerías, para la creación de estrategias adecuadas de manejo (Craig *et al.*, 2004) o bien, para la reestructuración de los reglamentos de pesca existentes. La falta de esta información limita en gran medida el manejo sustentable y puede acelerar el proceso de declinación de los recursos naturales (Mustafa, 1999).

Actualmente, una de las alternativas más empleadas para mitigar el efecto de sobre-pesca ha sido la creación de programas de repoblación (Waples, 1991). De acuerdo con Bartley (1995), esta práctica implica el uso de piscifactorías para mantener, ampliar o incrementar el número de organismos de las pesquerías existentes o bien para crear otras nuevas, a través de la liberación de organismos cultivados (p.e. trucha de arroyo, Reisenbichler *et al.*, 1997; salmón, Waples, 1994; Clifford, 1998; trucha marrón, Hansen *et al.*, 2000; tambor rojo, Seyoum *et al.*, 2000).

La repoblación marina ha sido criticada por dos motivos principales: la falta de pruebas de que esta actividad resulte beneficiosa para la pesquería y los altos costos de mantenimiento de las piscifactorías (Bartley, 1995). No obstante, una de las principales preocupaciones para los científicos es la incertidumbre sobre las consecuencias genéticas producto de la interacción entre peces de criadero y poblaciones silvestres.

Hoy día la mayoría de este tipo de programas centra su atención en incrementar numéricamente la población olvidando mantener la diversidad genética de la misma. En la reproducción artificial con fines de repoblación el tamaño efectivo poblacional (número de reproductores) es generalmente pequeño, por lo que la endogamia puede provocar la acumulación de pequeñas mutaciones deletéreas y la adaptación genética al cautiverio, trayendo como última consecuencia una pérdida de diversidad genética (Hedgecock, 2004; Kapuscinski y Miller, 2007; Frankham, 2008).

Waples (1991) menciona entre las causas más importantes de la pérdida de diversidad genética: hibridización e introgresión, diferencias en la adaptabilidad, reducción en el tamaño efectivo de la población y la transferencia entre stocks. Esto ha sido demostrado en varios estudios recientes que han abordado la temática (Hindar *et al.*, 1991; Clifford *et al.*, 1998a, b).

El principal efecto negativo de la dilución de la diversidad genética de los peces silvestres, es que puede disminuir la capacidad de la especie a soportar cambios en el ambiente, ya que se generan problemas secundarios, entre los que destacan la reducción del éxito reproductivo, el incremento en la vulnerabilidad a enfermedades por efectos de la endogamia y por ende, mayores tasas de mortandad (Hedgecock, 2004). En conjunto, todos estos factores pueden reducir la abundancia de la población generando un colapso en las pesquerías e incluso, en casos extremos, la extinción de la especie (Mustafa, 1999).

Debido a los riesgos potenciales de los programas de repoblación descritos anteriormente, uno de los aspectos que han cobrado mayor importancia en este campo es el seguimiento, a través de marcadores genéticos moleculares, de aquellos organismos liberados que nacen por reproducción artificial con el objeto de evaluar los efectos sobre las poblaciones silvestres (Moran, 2002). Por ello, hoy en día, los programas de repoblación dirigen su atención hacia la genética como principal herramienta de apoyo para la toma de decisiones dentro de la biología pesquera y la acuicultura (Bartley y Kent, 1990).

Acorde con esta tendencia, el presente estudio emplea un marcador genético molecular como una primera aproximación para analizar el caso particular de la corvina blanca, una de las muchas especies de sciánidos con una historia de sobre-explotación y para la que se ha implementado un programa de repoblación. Esto tiene como finalidad evaluar el impacto que dicho programa pudiera tener sobre la población silvestre.

## ANTECEDENTES

La corvina blanca (*Atractoscion nobilis*) pertenece a la familia Sciaenidae, una de las familias de peces mas diversas y abundantes. La pesca de esta especie, existe desde finales de 1800s, pero el incremento intensivo en la actividad pesquera, aunado a fluctuaciones oceanográficas y a la degradación natural y antropológica de su hábitat, ha generado una reducción considerable en su población (Hanan *et al.*, 2001; Williams, 2006).

Esta problemática a recibido especial interés por parte de los Estados Unidos Americanos (EE.UU), ya que la corvina blanca es un recurso pesquero de gran importancia económica para el gobierno del estado de California, tanto desde el punto de vista de la pesca deportiva (Vojkovich y Reed, 1983), al ser el sciánido mas grande que habita las aguas de California (llegando a medir 1.7m y pesar 38kg), así como, desde el de la pesca comercial, por la gran demanda que tiene en el mercado, dada la alta calidad nutricional de la especie (Moser *et al.*, 1983).

Las capturas deportivas, después de alcanzar su punto máximo en 1949, sufrieron una notable disminución hasta 1978. Entre 1980 y 1991, aumentaron moderadamente las capturas pero representaron tan sólo el 2% del pico de 1949 (Vojkovich y Crooke, 2001). Por su parte, las capturas comerciales totales fueron disminuyendo lentamente desde principios de 1900's (Vojkovich y Reed, 1983).

Como respuesta a la disminución en la abundancia de la especie, desde 1931 entraron en vigor distintas reglamentaciones que incluyeron desde vedas temporales y límites en el número y/o tamaño de los organismos capturados, hasta restricciones en las técnicas de pesca (Vojkovich y Crooke, 2001). No obstante, entre 1980 y 1981 hubo un colapso de la pesquería comercial que

extrajo solamente el 10% de lo que históricamente se había capturado (Allen *et al.*, 2007).

Además, es importante señalar que en 1982 el gobierno mexicano excluyó de su zona económica exclusiva a la flota pesquera norteamericana, por lo que los volúmenes de desembarque de corvina blanca en California se redujeron cerca de un 40%. Sin ninguna otra acción de manejo, la captura comercial se mantuvo en niveles bajos en los 80's y los 90's (Allen *et al.*, 2007).

Aunque algunas de las medidas de protección tomadas desde 1930 aún están vigentes hoy día, el Departamento de Pesca y Caza de California, estableció a principios de los años 80's el programa de repoblación como una nueva alternativa para restaurar los niveles de abundancia de la corvina blanca en sus costas. Entre 1986 y 2003 el Instituto de Investigaciones "Hubbs-SeaWorld" en Carlsbad, California, liberó alrededor de 744,000 organismos producto de su programa de reproducción en cautiverio (Hedgecock, 2004). Ya para el 2006, la cifra excede 1.1 millones de juveniles liberados (Shane *et al.*, 2006).

Actualmente existen indicios de que la población de corvina blanca de las costas de California se está recuperando de los bajos niveles de abundancia detectados en los años setentas, ochentas y la mayoría de los noventas (Allen *et al.*, 2007). Es en estos momentos cuando las autoridades del gobierno mexicano y los científicos de la región, debemos mostrar interés por dar seguimiento y monitorear el programa de repoblación, ya que, como se mencionó anteriormente, si bien este tipo de programas tienen el potencial para reconstruir numéricamente las poblaciones, también pueden generar interacciones negativas en la población silvestre.

En los últimos años, diferentes técnicas moleculares utilizando ADN nuclear o ADN mitocondrial (ADNmt), han proporcionado nueva información sobre la variabilidad genética de poblaciones silvestres y cultivadas de un importante número de especies de peces (Bielawski y Pumo, 1997; Nielsen *et al.*, 1995; Pérez-Enríquez *et al.*, 1999; Koh *et al.*, 1999; Iguchi *et al.*, 1999; Reilly *et al.*, 1999; Sivasundar *et al.*, 2001; Yoon y Park, 2002; Was y Wenne, 2002).

Investigadores del Programa de “Hubbs-SeaWorld”, han estudiado el caso particular de corvina blanca. Pese a que Hedgecock (2004) y su grupo han realizado varios estudios de esta índole, mediante el análisis de ADNmt y recientemente mediante el análisis de marcadores de ADN nuclear (microsatélites), ninguno de estos estudios incluye muestras de la Península de Baja California.

La corvina blanca se distribuye desde el sur de Alaska, EE.UU., hasta la porción sur de la Península de Baja California, México (Castro-Aguirre *et al.*, 2005). Aunque se caracteriza por ser un pez migratorio (Buhr, 2003), poco es lo que se sabe sobre el nivel de conectividad de las poblaciones de esta especie a lo largo de su distribución. Cabe señalar que aunque existen ciertas evidencias que sugieren una mezcla de organismos entre California y México (Vojkovich y Crooke, 2001; Williams, 2006), una distribución geográfica vasta y aparentemente continua, no garantiza la homogeneidad de la población o la falta de barreras de cruzamiento (Mustafa, 1999).

Aunado a lo anterior, existe controversia acerca de la principal zona de desove y por ende de la zona de mayor importancia desde el punto de vista de diversidad genética. Por un lado, algunos autores mencionan que el núcleo de la población parece ser la porción central de Baja California, México (Moser, 1983; Vojkovich y Crooke, 2001; Williams, 2006) al encontrar la mayoría de los huevos y larvas en la zona costera entre San Sebastián Vizcaíno y Bahía San Juanico, en la costa occidental de la península Baja California (Vojkovich y

Crooke, 2001). Esto sugiere que los reproductores se concentran principalmente en esta zona y por esta razón podría considerarse la zona de mayor importancia en términos de conservación. Por su parte, autores como Buhr (2003) señala que la población se encuentra centralizada entre Punta Concepción en California y Bahía Ballenas en la costa occidental de la península de Baja California (la cual es una área muy extensa que incluye ambas localidades del área de estudio).

Así pues, ante este panorama en el que se desconoce la relación entre los organismos que habitan las costas de los EE.UU. y los de las costas de México, no es posible evaluar con bases sólidas el impacto del programa de repoblación sobre los organismos de nuestras aguas costeras. Dado que en este programa se utilizan organismos de las costas de California para conformar el núcleo de reproductores, el impacto sobre la población silvestre podría no ser tan severo si realmente existe un sólo stock de corvina blanca con un área de desove extensa. Por el contrario, si hubiese más de un stock y poca conectividad genética entre estos, el programa de repoblación en vigor tendría mayor impacto al estar liberando sólo una fracción del total de las variantes genéticas que ocurren en la población silvestre.

Ante este panorama, se hace evidente entonces la necesidad de realizar un estudio de variabilidad genética que incluya organismos de ambas localidades que permita esclarecer si existe o no estructura poblacional en la corvina blanca. Esta información es fundamental para la delimitación de la pesca y de las unidades de gestión, así como para la evaluación de las interacciones de la pesquería y, en una escala de tiempo más larga, la conservación de la variación genética (Graves, 1997).

El ADNmt puede ser una herramienta muy eficaz para la recopilación de información en análisis de genética poblacional, ya que además de ser de fácil extracción y amplificación, tiene características únicas dada su transmisión vía

materna, como el rápido ritmo de cambios evolutivos, la transmisión sin recombinación y la herencia haploide (Avice, 1994).

A pesar del alto polimorfismo que presenta, la estructura y organización del genoma mitocondrial de vertebrados es altamente conservada (Noack *et al.*, 1996). Por lo tanto, las variaciones en el ADNmt han sido de gran utilidad como línea de base para la gestión de las poblaciones de especies de peces (Martins *et al.*, 2003). No obstante, es importante hacer énfasis en que este tipo de marcador, en el que se analiza la variabilidad de la región control de ADNmt, posee una escala temporal evolutiva que refleja los cambios históricos que ha sufrido una población (miles-millones de años).

Debido a que el objetivo del presente estudio es el de evaluar las posibles consecuencias e impactos del programa de repoblación sobre un escenario sustentado con información científica, se plantea un estudio prospectivo en el que se empleará una aproximación genética para establecer la relación que guardan aquellos organismos de la población silvestre de corvina blanca del sur de California, suplementada con organismos del programa de reproducción artificial desde hace 28 años, con respecto a los organismos de la porción central de Baja California.

## **HIPÓTESIS**

Debido a que la porción central de Baja California se considera la principal zona de desove de la corvina blanca, se espera encontrar una mayor diversidad genética en las localidades de la costa de Baja California con respecto a las del sur de California. Sin embargo, el patrón migratorio de la especie sugiere un intenso flujo génico y la ausencia de estructuración de la población.

## **OBJETIVOS**

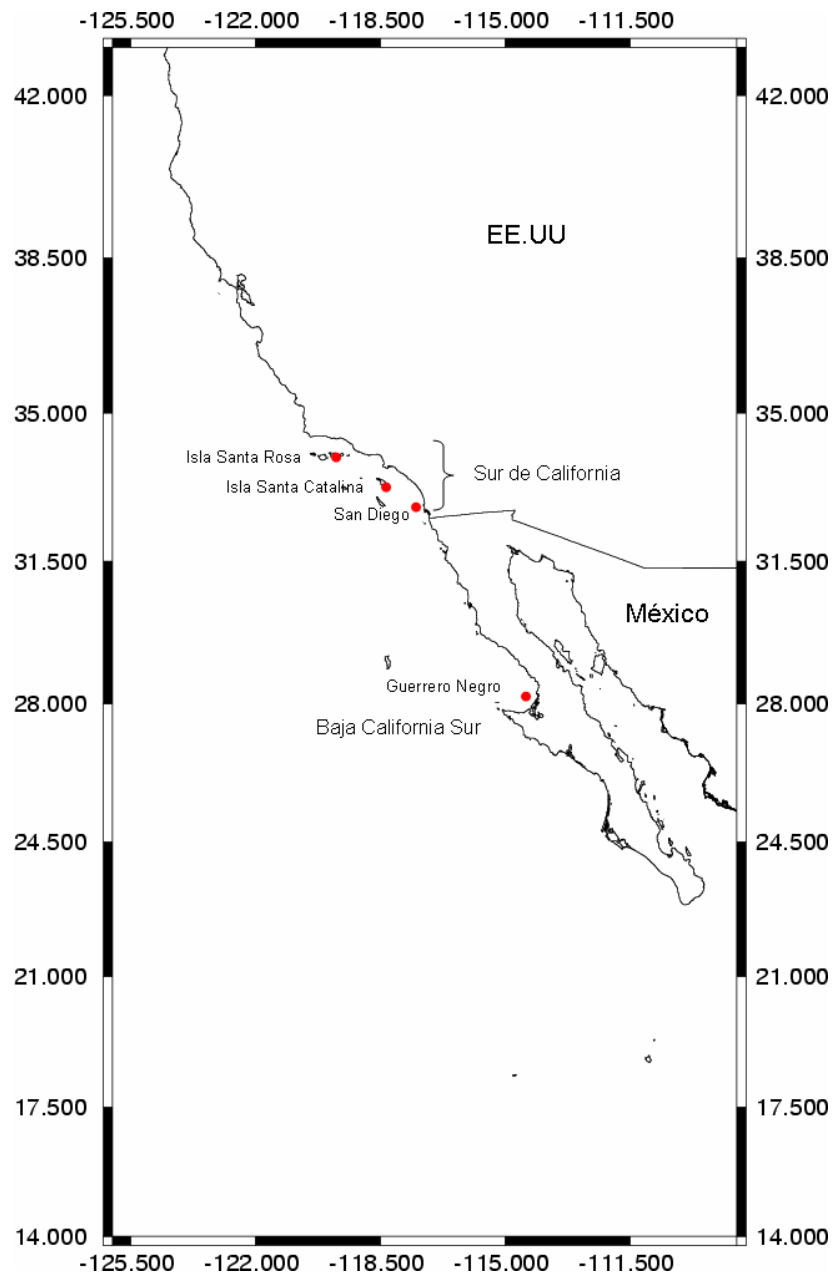
### **Objetivo General**

- Establecer el nivel de conectividad entre la población silvestre de corvina blanca de la porción central de Baja California con respecto a aquella de la costa del Sur de California.

### **Objetivos Particulares**

1. Estimar los niveles de diversidad haplotípica y nucleotídica de la corvina blanca en la región control del ADN mitocondrial.
2. Determinar si la población silvestre de corvina blanca esta genéticamente estructurada.
3. Plantear un escenario plausible sobre la historia demográfica de la población de corvina blanca con base en datos moleculares a nivel de ADN.

## ÁREA DE ESTUDIO



**Figura 1.** Área de estudio. La localidad 1, es representativa de California (EE.UU.) e incluye muestras de la costa de San Diego y de las islas Santa Rosa y Santa Catalina. La localidad 2, es representativa de Baja California (México) e incluye muestras de la costa de Guerrero Negro.

### **Localidad 1: California (EE.UU.)**

- Isla Santa Rosa pertenece al estado de California, EUA. Es una pequeña isla de 70km<sup>2</sup> aproximadamente que se encuentra al NO de San Diego. Se ubica geográficamente en 33° 37' 16.59" N y 120° 06' 13.42" O.
- Isla Santa Catalina pertenece al estado de California, EUA. Es una pequeña isla de 80km<sup>2</sup> aproximadamente que se encuentra al NO de San Diego. Se ubica geográficamente en 33° 23' 01.02" N y 118° 25' 39.2" O.
- San Diego pertenece al estado de California, EUA. Colinda al norte con la ciudad de Los Ángeles y al sur con Baja California México, al oeste con el Océano Pacífico y al este con Arizona. Se ubica geográficamente en 32° 42' N y 117 °6' O.

### **Localidad 2: Baja California (México)**

- Guerrero Negro forma parte de Mulegé que es uno de los municipios del estado de Baja California Sur, México. Se localiza en la porción media occidental de la Península de Baja California en el paralelo 28, el cual separa los estados de Baja California y Baja California Sur. Se ubica geográficamente en 27° 57' 32 N, 114° 03' 22 O.

## **METODOLOGÍA**

### **I. Trabajo de Campo (Colecta de Muestras)**

En el presente estudio, se emplearon muestras de corvina blanca obtenidas de los mercados locales del Sur de California, EE.UU. y de Baja California Sur, México.

Para representar las costas de California (CC), se tomaron 34 muestras del mercado de San Diego, en donde se mercadean organismos de la costa (7) y de las islas Santa Rosa (20) y Santa Catalina (7), mientras que para representar la costa occidental de Baja California (BC), se tomaron 25 muestras del mercado de Guerrero Negro, donde se mercadean organismos propios de esta costa.

Para el estudio de estructura genética de las poblaciones de corvina, se disectaron de 20-30 mg de tejido muscular de los especímenes obtenidos en los mercados. El tejido de cada individuo se colocó en un tubo estéril con cierre hermético debidamente etiquetado. Finalmente las muestras fueron preservadas a  $-70^{\circ}$  C en el laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California - Unidad Ensenada hasta su procesamiento.

## II. Trabajo de Laboratorio

### i. Extracción del ADN

La extracción del ADN geonómico total (ADNt) se realizó por el método de Sales-CTAB (Hoelzel *et al.*, 1991) con algunas modificaciones (Anexo 1).

Se cortaron de 20 a 30 mg de tejido de cada muestra sobre un portaobjetos con ayuda de una navaja de bisturí previamente esterilizada, transfiriéndose posteriormente a un tubo para hacer la homogenización con un pistilo de polietileno.

La evaluación cualitativa de la integridad del ADN extraído se llevó a cabo mediante electroforesis, utilizando geles de agarosa al 2% con una concentración de 1.5 µg de bromuro de etidio por mililitro de gel (2% Agarosa<sub>EtBr</sub>). Se colocaron 6 µl del producto de la extracción de ADN en los pozos del gel y se corrieron durante 30 min a 80 V, visualizando el rendimiento de la extracción en una mesa de luz UV. Finalmente, la evaluación cuantitativa de ADN se efectuó en un espectrofotómetro NanoDrop™ 1000 (Thermo Scientific).

### ii. Amplificación parcial de la región control de ADNmt (PCR)

Los cebadores que se utilizaron para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron diseñados por Galarza (2002) a partir de la secuencia de la región control mitocondrial de *Sciaenops ocellatus* (Genebank, No. De acceso AF054805) y flanquean una porción de aproximadamente 390 pares de bases. Tales cebadores son REDRIF (5'-CCACCACTAACCCAAAAC-3') y REDRIR (5'-TGTCCTCACCTTCAATAACC-3').

La amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 30  $\mu$ l conteniendo de una solución amortiguadora con Tris-HCl pH 8.4 10 mM, cloruro de potasio (KCl) 55 mM, cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ) 3.0 mM, mezcla de nucleótidos (dNTPs) 220  $\mu$ M, 280 pmol de cada cebador y 1.1 U de Taq ADN Polimerasa (Invitrogen<sup>TM</sup>), partiendo de entre 5 y 15 ng de ADNt.

La amplificación se realizó en un termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient. El perfil del termociclador consistió de un primer ciclo de precalentamiento de 4 minutos a 94°C, seguido de 35 ciclos que incluían 45 segundos de desnaturalización a 94°C, 45 segundos de reincorporación o acoplamiento de los cebadores a 48°C y 45 segundos de extensión a 70°C. Por último, se agregó un ciclo de 5 minutos de extensión final a 70°C.

Los amplicones se limpiaron utilizando el kit PCR Purification Kit Pure Link<sup>TM</sup> (Invitrogen). Posteriormente se estimó la concentración final del ADN amplificado por medio de electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio (EtBr, 0.05  $\mu$ l/mL). El tamaño de los fragmentos de ADN se determinó por medio de un marcador de peso molecular de 500 pb (Gico-BRL).

### iii. Secuenciación

Las reacciones de secuenciación se prepararon en un volumen final de 12 $\mu$ l (6.4 pmoles de alguno de los cebadores (REDRIF o REDRIR), 80-100 ng del fragmento de DNA purificado y  $H_2O_{dde}$  hasta ajustar al volumen y se mandaron a secuenciar a SeqXcel Inc., San Diego, California ([www.seqxcel.com](http://www.seqxcel.com)), quienes emplean nucleótidos terminadores de secuencia (BigDye® Terminador v3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems) en una reacción de secuenciación cíclica.

Los productos de secuenciación fueron evaluados en un secuenciador automático ABI Prism 3100 de tecnología capilar. Los cromatogramas generados por el secuenciador se almacenaron en formato electrónico hasta su procesamiento.

#### iv. Edición de las secuencias

Se realizó la alineación y edición de las secuencias de los cromatogramas, por medio de los programas ChromasPro versión 1.33 (Technelysium Pty Ltd) y UltraEdit-32, respectivamente, para obtener las secuencias nucleotídicas consenso de ambas cadenas de cada muestra. Una vez alineadas las secuencias, se removieron los extremos correspondientes a los cebadores.

### III. Trabajo de Gabinete (Análisis estadístico)

#### i. Número y frecuencia de haplotipos mitocondriales

Inicialmente se realizó la identificación de los sitios variables entre las secuencias mediante el programa MEGA 3.0 (Tamura *et al.*, 2007). Este programa permitió identificar las secuencias distintas (haplotipos) y el cálculo de sus frecuencias relativas.

#### ii. Diversidad genética

Para estimar el nivel de variabilidad genética se calculó la diversidad haplotípica  $H$  de acuerdo a Nei (1987), el número de diferencias apareadas entre haplotipos  $\pi$  y la diversidad nucleotídica  $\pi_n$  con base en los algoritmos de Tajima (1983) y Nei (1987). Para ello se utilizó el programa Arlequin ver. 3.11 (Excoffier *et al.*, 2006).

#### iii. Filogenia intraespecífica

Se aplicó una prueba de hipótesis jerárquica para establecer el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajuste a los datos observados usando el programa ModelTest (Posada y Crandall, 1998).

El modelo así seleccionado fue empleado para calcular la distancia genética molecular y reconstruir así la filogenia intraespecífica a través de un árbol filogenético de mínima evolución (Rzhetsky y Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2007) y una red de la mínima dispersión (*minimum spanning network*, ) (Excoffier *et al.*, 1992).

#### iv. Estructura genética

Aunque la arquitectura de la red de la mínima dispersión permite evaluar de forma gráfica si existe estructuración entre las poblaciones asociadas a un patrón filogeográfico de los haplotipos, se calculó también la partición de la varianza genética por medio de un análisis de varianza molecular (AMOVA) para determinar el grado de estructuración entre BC y CC. Dicho análisis se realizó empleando el estadístico F de Wright ( $F_{ST}$ , Weir y Cockerham, 1984), que considera exclusivamente la frecuencia de los haplotipos, y su análogo  $\Phi_{ST}$  (Excoffier *et al.*, 1992), que considera además las distancias genéticas entre los mismos.

Todos los análisis de estructura poblacional se realizaron con ayuda del programa Arlequin ver. 3.11 (Excoffier *et al.*, 2006).

#### v. Historia demográfica

La distribución de diferencias pareadas es afectada por múltiples factores, como los son los cambios demográficos, la selección y la recombinación (Mousset *et al.*, 2004). Así pues, para el análisis de la demografía histórica se comparó la distribución de diferencias pareadas observadas con la esperada bajo un escenario de expansión demográfica. Adicionalmente, dado que el correcto uso de los algoritmos anteriormente señalados supone neutralidad de los marcadores, se aplicó el índice D de Tajima para probar neutralidad y evaluar de forma paralela si existía evidencia de expansión demográfica. Estos análisis se efectuaron en el programa Arlequin ver. 3.11 (Excoffier *et al.*, 2006).

Adicionalmente, los valores de diversidad genética ( $H$  y  $\pi_n$ ) obtenidos para la corvina blanca en este estudio se compararon con aquellos reportados para otras especies a través de un análisis discriminante (Johnson, 1994). Se utilizaron los criterios propuestos por Grant y Bowen (1998), quienes reconocen cuatro categorías con base en los valores de  $H$  y  $\pi_n$ , asignando un escenario demográfico a cada una de ellas. Estas categorías se emplearon como criterios de clasificación *a priori* y el análisis discriminante indicó dentro de cual de los escenarios queda mejor clasificada la corvina blanca.

## RESULTADOS

### I. Variabilidad Genética

Se logró obtener, amplificar y secuenciar la región control del ADN de los 59 especímenes recolectados. Después de editar y alinear las secuencias, se pudo comparar sin ambigüedades un fragmento homólogo de 331 pares de bases correspondiente a la región control mitocondrial (Tabla I). La composición nucleotídica promedio de las secuencias de corvina blanca resultó en una mayor proporción pirimidínica (C= 18.63%; T= 35.14%; A= 36.14%; G= 10.08%).

**Tabla I.** Secuencia nucleotídica de la porción de la región control mitocondrial de la corvina blanca. La secuencia corresponde al haplotipo AnH18 que fue el que se presentó con mayor frecuencia en la muestra analizada. Entre corchetes se especifica el número del sitio para el último nucleótido de cada línea.

---

TAGTATTCTA	AACTAAACTA	CTCTTTGCGA	TGCAAAATAC	ATGTATGTAT	ATACACCATA	[ 60 ]
CAATTATATT	AACCATATCA	ATAGTATTTA	AGTACATTAC	TGTTTTATAA	CCATTTCTTG	[120]
GTTTCCCCCA	TTCATATATC	ACCATTTTAA	GATTATATAC	ATAAAGCATA	ATACTATTAA	[180]
CTAACTATCT	TTATAATATG	GTTACTAGCG	AACTTATGG	CCCTAACAGT	ACAGTCCATA	[240]
GGTCAAGATA	TAACACGGAC	TCAACATATT	GTAATTCTTC	AAATTCTTAA	TGTAGTAAGA	[300]
ACCGACCATC	AGTTGATTC	TTAATGCACA	C			[331]

---

En la tabla II se presentan los sitios variables que definen cada haplotipo, así como la frecuencia relativa de los mismos en cada localidad y de manera global. En los 59 especímenes analizados se observaron 30 sitios variables, 14 de ellos filogenéticamente informativos (parsimoniosos), que permitieron distinguir 32 haplotipos mitocondriales de corvina blanca.

Siete de los haplotipos ocurrieron en ambas localidades (AnH01, AnH11, AnH13, AnH14, AnH18, AnH22 y AnH26) y exhibieron las mayores frecuencias relativas; el conjunto de todos ellos ocurrió en cerca del 53% de los individuos muestreados. El haplotipo AnH18 fue el más abundante en la muestra de BC (20%), mientras que para CC lo fue el haplotipo AnH22 (12%). Aunque en términos generales el haplotipo más abundante fue AnH18, este representó tan solo al 14% de los individuos (8) y en contraste, un importante número de haplotipos estuvieron representados exclusivamente por un individuo, tanto en BC (10 haplotipos) como en CC (9 haplotipos).

En particular, tanto el número de haplotipos relativo al número de individuos analizados, como la diversidad nucleotídica fueron ligeramente mayores para BC. En contraste, la diversidad haplotípica resultó menor en BC que en CC, muy probablemente como consecuencia de que BC presentó mayor heterogeneidad en las frecuencias relativas de sus haplotipos (Tabla III).

**Tabla II.** Sitios variables y frecuencia relativa de los haplotipos mitocondriales de la corvina blanca observados para la costa occidental de la Península de Baja California, México (BC) y la costa de California, EE.UU. (CC). Los sitios parsimoniosamente informativos se indican con sombreado gris.

Haplotipo	Frecuencia		Total	Sitios variables																										Muestras										
	BC	CC		0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2		2	2	2	2	2	2	2	2	3	
AnH01	0.08	0.06	0.07	A	C	A	T	C	T	T	A	A	T	C	T	T	G	A	G	A	G	T	C	C	T	A	T	T	T	T	C	G	C	BC14,BC19, CC01, CC02						
AnH02	0.00	0.06	0.03														A																				CC07, CC08			
AnH03	0.00	0.03	0.02																A																		CC19			
AnH04	0.00	0.03	0.02									G											T														CC09			
AnH05	0.00	0.03	0.02														G					C	T														CC04			
AnH06	0.00	0.03	0.02														G					C	T	T													CC21			
AnH07	0.00	0.06	0.03																							G											CC03, CC26			
AnH08	0.04	0.00	0.02				A																			G											BC08			
AnH09	0.00	0.03	0.02					C																		G											CC12			
AnH10	0.00	0.03	0.02										T													G											CC22			
AnH11	0.04	0.06	0.05														A									G											BC11, CC11, CC33			
AnH12	0.04	0.00	0.02				T										C				G					G											BC07			
AnH13	0.04	0.03	0.03														A				A					G											BC24, CC24			
AnH14	0.04	0.06	0.05																				C			G											BC02,CC05, CC20			
AnH15	0.04	0.00	0.02				T		C		G												C			G											BC21			
AnH16	0.00	0.03	0.02																							G												CC06		
AnH17	0.04	0.00	0.02																							C			T		G							BC06		
AnH18	0.20	0.09	0.14																									C		C	G							BC03,BC12,BC17,BC18,BC22,CC10,CC15,CC31		
AnH19	0.04	0.00	0.02																			A				G	C										BC04			
AnH20	0.04	0.00	0.02		T																							A				G	C					BC25		
AnH21	0.00	0.03	0.02																															C				CC29		
AnH22	0.08	0.12	0.10																															C				BC10,BC23,CC13,CC14,CC16,CC34		
AnH23	0.04	0.00	0.02	G																														C				BC09		
AnH24	0.00	0.03	0.02								G																							C				CC30		
AnH25	0.04	0.00	0.02																							G									T			BC16		
AnH26	0.12	0.06	0.08				C																				G								A			BC05,BC13,BC15,CC25,CC28		
AnH27	0.04	0.00	0.02				C																					T				G				A		BC20		
AnH28	0.00	0.03	0.02																									C			C	G					A		CC32	
AnH29	0.00	0.06	0.03																																C		A		CC17,CC18	
AnH30	0.00	0.03	0.02														A	A																			T		CC23	
AnH31	0.04	0.00	0.02																																				BC01	
AnH32	0.00	0.03	0.02																																C		C	G		CC27

El polimorfismo en la región control mitocondrial de la corvina blanca se caracterizó por una alta proporción de transiciones (Tabla III). Considerando a todo el conjunto de organismos, la proporción transición/transversión fue de 14:1 y se detectaron 2 deleciones. No obstante, el número y el tipo de sustituciones nucleotídicas, incluídas las deleciones, fue prácticamente el mismo para BC y CC.

De manera global, la diversidad haplotípica estimada y su desviación estándar fue de  $0.96 \pm 0.012$  pese a las marcadas diferencias en la frecuencia relativa de los haplotipos. Este valor denota la ocurrencia de más de un haplotipo común en ambas localidades (Tabla III). Por su parte, el número promedio de diferencias nucleotídicas entre los distintos haplotipos maternos y su desviación estándar fue de  $3.37 \pm 1.75$ , mientras que en la estimación de diversidad nucleotídica promedio y su desviación estándar se encontró un valor de  $0.0102 \pm 0.0059$  (Tabla III).

**Tabla III.** Polimorfismo de la región control mitocondrial y diversidad genética de la corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC).

Localidad	<i>n</i>	<i>n<sub>H</sub></i>	<i>V</i>	<i>S</i>	<i>T<sub>s</sub></i>	<i>T<sub>v</sub></i>	<i>InDels</i>	Razón <i>n<sub>H</sub>/n</i>	<i>H</i> (s.d.)	<i>π<sub>n</sub></i> (s.d.)
BC	25	17	20	20	19	1	1	0.680	0.9500 (0.030)	0.0113 (0.007)
CC	34	22	22	21	20	1	1	0.647	0.9715 (0.014)	0.0098 (0.006)
Global	59	32	22	30	28	2	1	0.542	0.9597 (0.012)	0.0102 (0.006)

Nota: *n* representa el número de individuos analizados, *n<sub>H</sub>* el número de haplotipos, *V* el número de sitios variables en la secuencia, *S* el número de sustituciones nucleotídicas, *T<sub>s</sub>* el número de transiciones, *T<sub>v</sub>* el número de transversiones, *InDels* el número de inserciones/deleciones, *H* la diversidad haplotípica, *s.d.* la desviación estándar y *π<sub>n</sub>* la diversidad nucleotídica.

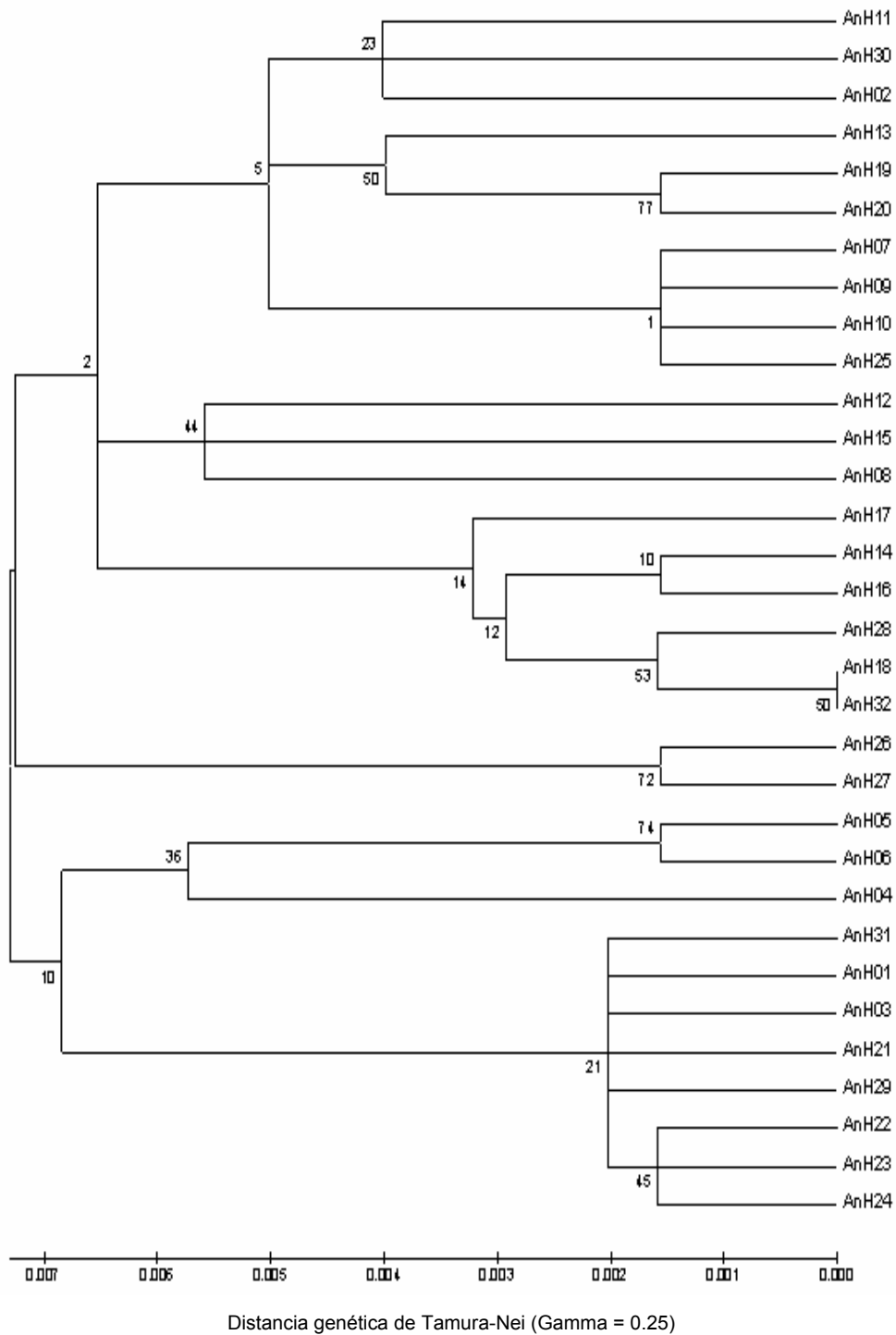
## II. Distancia Genética Molecular

La prueba de hipótesis jerárquica implementada en el programa ModelTest estableció como mejor modelo de sustitución nucleotídica el de Tamura-Nei con una tasa heterogénea entre sitios (TrN+I+G; -lnL = 805.507; K = 164, Gamma = 0.249).

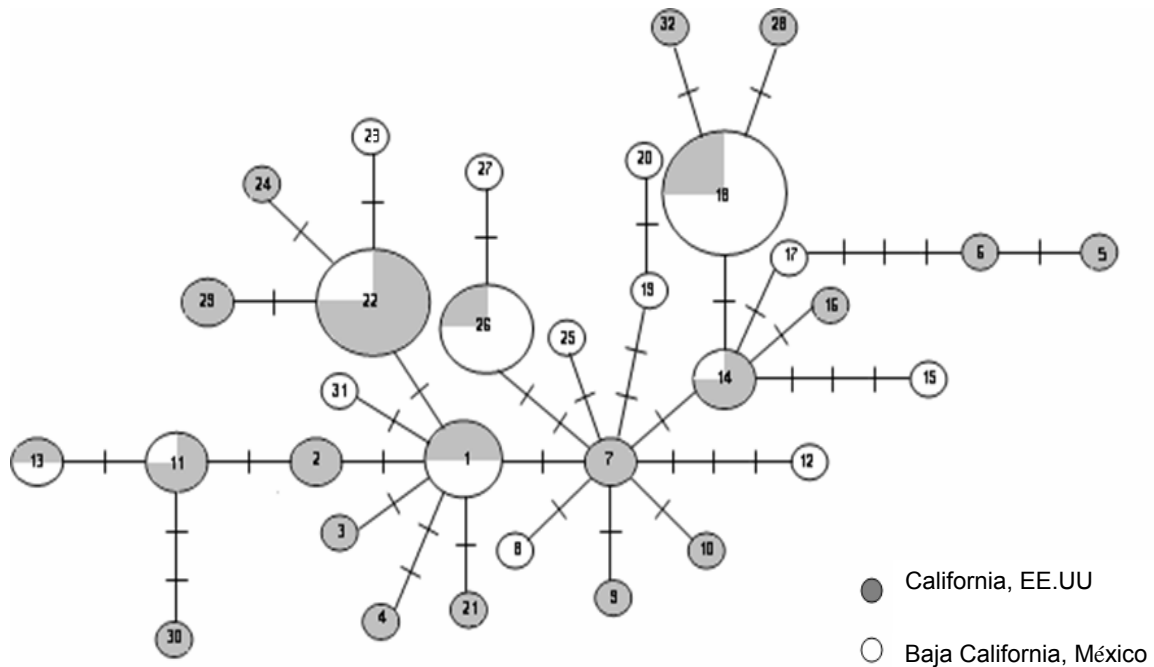
La figura 2 muestra el árbol filogenético intraespecífico de la corvina blanca reconstruido con base en dicho modelo y bajo el criterio de optimización por mínima evolución. La topología del árbol estuvo pobremente sustentada al exhibir valores de bootstrap menores a 50 en los nodos basales.

La topología del árbol filogenético resultó congruente con la arquitectura de la red de mínima dispersión (Fig. 3). Aunque dicha arquitectura denota la presencia de algunos haplotipos comunes y de muchos otros con baja frecuencia, estos se encuentran distribuidos homogéneamente a lo largo y ancho de la red de mínima dispersión. La red no mostró polarización de los linajes y tampoco la ocurrencia de un solo haplotipo central del que deriven el resto. Como se mencionó anteriormente, BC y CC comparten siete de los haplotipos, que como puede apreciarse en la figura 3, son aquellos representados por un mayor número de individuos.

Tanto el árbol filogenético, como la red de la mínima dispersión, evidencian la ausencia de estructura poblacional y sugieren una historia demográfica estable. Sin embargo, estos aspectos se analizaron de forma independiente y los resultados de dichos análisis se presentan a continuación.



**Figura 2.** Árbol filogenético linealizado de los linajes mitocondriales de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC) y California, EE.UU. (CC). Reconstrucción basada en el criterio de mínima evolución y empleando el modelo de sustitución nucleotídica de Tamura-Nei con corrección Gamma (Gamma = 0.25). Se indican sobre los nodos los valores de sustento de las ramas después de 5000 remuestros por bootstrap.



**Figura 3.** Red de la mínima dispersión (MSN) para los linajes mitocondriales de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California (México) y California (EE.UU.). Los círculos denotan los haplotipos y su tamaño es proporcional al número de individuos que presentan cada linaje. Las líneas interconectan los linajes representando las relaciones filogenéticas y las líneas perpendiculares corresponden al número de sustituciones nucleotídicas. Los números designan a los linajes (p.e. 1 = AnH01, 2 = AnH02, etc.).

### III. Estructura Genética

La existencia de estructura poblacional entre las corvinas blancas de BC y CC se realizó mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA). Para este análisis se calcularon los estadísticos F de Wright ( $F_{ST}$ ) y sus análogos  $\Phi_{ST}$  usando dos matrices de distancia genética entre los individuos: el número de diferencias nucleotídicas y la basada en el modelo de Tamura-Nei seleccionado por el ModelTest (Tabla IV). Para todos los casos, la significancia estadística del AMOVA se estimó con base en 10,000 permutaciones.

**Tabla IV.** Valores obtenidos de los distintos índices de diferenciación en el examen de estructura genética de las muestras de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC).

	Diferenciación genética	Partición de la varianza		<i>p</i> (s.d.)
		Entre Localidades	Dentro de las localidades	
$F_{ST}$	-0.0058	-0.58	100.58	0.696 (0.004)
$\Phi_{ST}^a$	0.0049	0.49	99.51	0.291 ( 0.004)
$\Phi_{ST}^b$	0.0064	0.64	99.36	0.272 (0.005)

Nota:  $F_{ST}$  se calculó por medio del F-estadístico convencional de las frecuencias de haplotipos,  $\Phi_{ST}^a$  se calculó por medio de las diferencias pareadas y  $\Phi_{ST}^b$  se calculó por medio del método de distancia Tamura-Nei con una Gamma de 0.25.

Dado que el método de distancia Tamura-Nei es el que mejor se ajusta a los datos del presente estudio, se dará prioridad a los resultados obtenidos mediante esta aproximación. La estimación de diferenciación genética obtenida por este método resultó de 0.0064 ( $p = 0.272$ ). En cuanto a la partición de la varianza, se observó que cerca del 99% de ella fue explicada por las diferencias dentro de las localidades y menos del 1% estuvo asociada con las diferencias entre localidades. Se infiere, por lo tanto, un flujo genético intenso entre las localidades que limita el establecimiento de estructura genética entre BC y CC.

Independientemente del índice empleado, el AMOVA resultó en valores muy bajos y no significativos de diferenciación genética (Tabla IV). En resumen, el análisis de estructura sugiere la existencia de una población continua y homogéneamente distribuida entre la porción central de la península de Baja California y la porción sur de California.

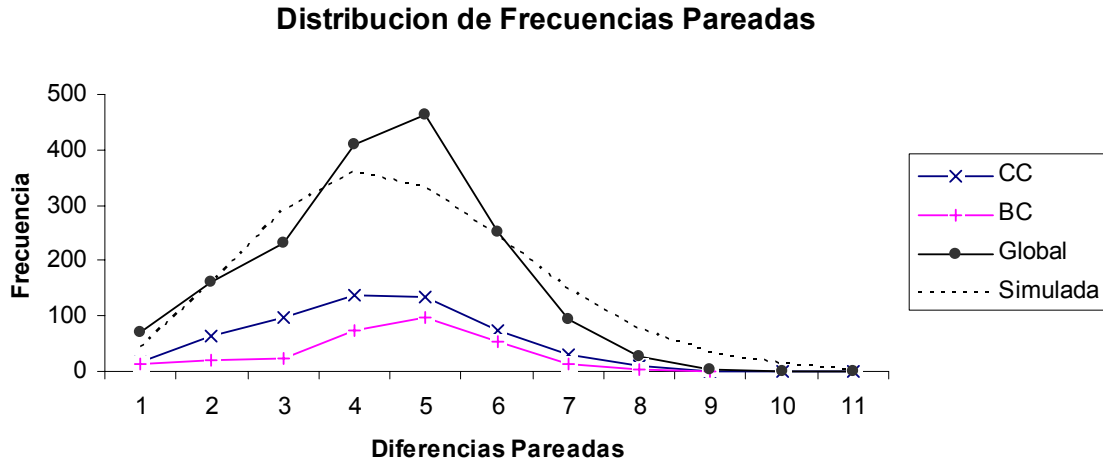
Este resultado es congruente con lo sugerido por la red de la mínima dispersión (Fig. 3) y puede explicarse por el hecho de que los haplotipos se encuentran homogéneamente distribuidos a lo largo del área de estudio.

#### **IV. Demografía histórica**

Dado que no se encontraron diferencias significativas entre localidades según el examen de estructura genética, se procedió a realizar el análisis de la historia demográfica con base en la distribución de frecuencias del número de diferencias nucleotídicas pareadas y la prueba de neutralidad de Tajima considerando, en primera instancia, que todos los individuos muestreados forman parte de una sola población (Tabla V). Sin embargo, debido a que la mayoría de los haplotipos ocurrieron sólo en alguna de las localidades (ver Tabla II), se decidió realizar también el análisis de demografía histórica para cada localidad (Tabla V).

La distribución de frecuencias del número de diferencias pareadas observadas mostró el comportamiento unimodal típico de una población en expansión (Fig. 4). En contraste, los resultados de las pruebas de expansión demográfica a través de la sumatoria de las diferencias cuadradas (SSD), entre la distribución de frecuencias observada y la esperada bajo la hipótesis de expansión, sugieren que la población global no presenta huellas demográficas de expansión al no detectarse diferencias significativas entre ellas (SSD = 0.0101,  $p = 0.5$ ).

Es importante mencionar que al efectuar el análisis para cada localidad, el valor de *SSD* obtenido para BC fue estadísticamente significativo y mucho más alto que en CC (Tabla V). Este resultado plantea la posibilidad de que la demografía de las localidades haya sido distinta a lo largo de su historia evolutiva.



**Figura 4.** Distribución de diferencias pareadas observadas con las esperadas, bajo un escenario de expansión demográfica de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC).

**Tabla V.** Valores de *ssd* (Sumatory of square diferences) y sus correspondientes valores de significancia, de las muestras de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC).

Localidad	SSD	$p$ (Sim SSD $\geq$ Obs SSD)
Global	0.0101	0.50
BC	0.0310	0.00
CC	0.0046	0.20

El índice *D* de Tajima usando todo el conjunto de datos como una sola población resultó en un valor negativo y significativo (Tabla VI). Sin embargo, aunque los valores del índice calculados para cada localidad fueron no significativos. Ya que cuando este índice toma valores negativos y significativos puede inferirse expansión demográfica (Schmidt y Pool, 2002), este resultado no es congruente con el sugerido por el análisis del número de diferencias pareadas (Tabla V).

**Tabla VI.** Valores del índice *D* de Tajima y los correspondientes valores de significancia estadística para la población de corvina blanca de las costas de la Península de Baja California, México (BC), y California, EE.UU. (CC).

Localidad	<i>D de Tajima</i>	<i>p</i> (D Sim ≥ D Obs)
Global	-1.530	0.030
BC	-1.152	0.103
CC	-1.294	0.100

Con el objeto de esclarecer el escenario demográfico más plausible para la corvina blanca, se consideraron las categorías propuestas por Grant y Bowen (1998). Estos autores plantean distintos escenarios demográficos que podrían explicar los niveles de diversidad genética poblacional reportados en la literatura para diversas especies de peces marinos (Tabla VII).

**Tabla VII.** Historias demográficas inferidas a partir de los valores de diversidad genética en poblaciones de peces. Tomado de Grant y Bowen (1998).

Categoría	$H$	$\pi_n$	Escenario demográfico	Ejemplo
1	Baja	Baja	Cuello de botella reciente	<i>Cynoscion regalis</i> <sup>a</sup>
			Efecto fundador	<i>Micropogonias undulatus</i> <sup>b</sup>
2	Alta	Baja	Cuello de botella seguido por crecimiento poblacional rápido	<i>Cynoscion acoupa</i> <sup>c</sup>
3	Baja	Alta	Divergencia entre poblaciones geográficamente subdivididas	Especies continentales
4	Alta	Alta	Población grande y estable con una larga historia evolutiva	<i>Sciaenops ocellatus</i> <sup>d</sup>
			Contacto secundario entre linajes diferenciados	<i>Macrodon ancylodon</i> <sup>e</sup>

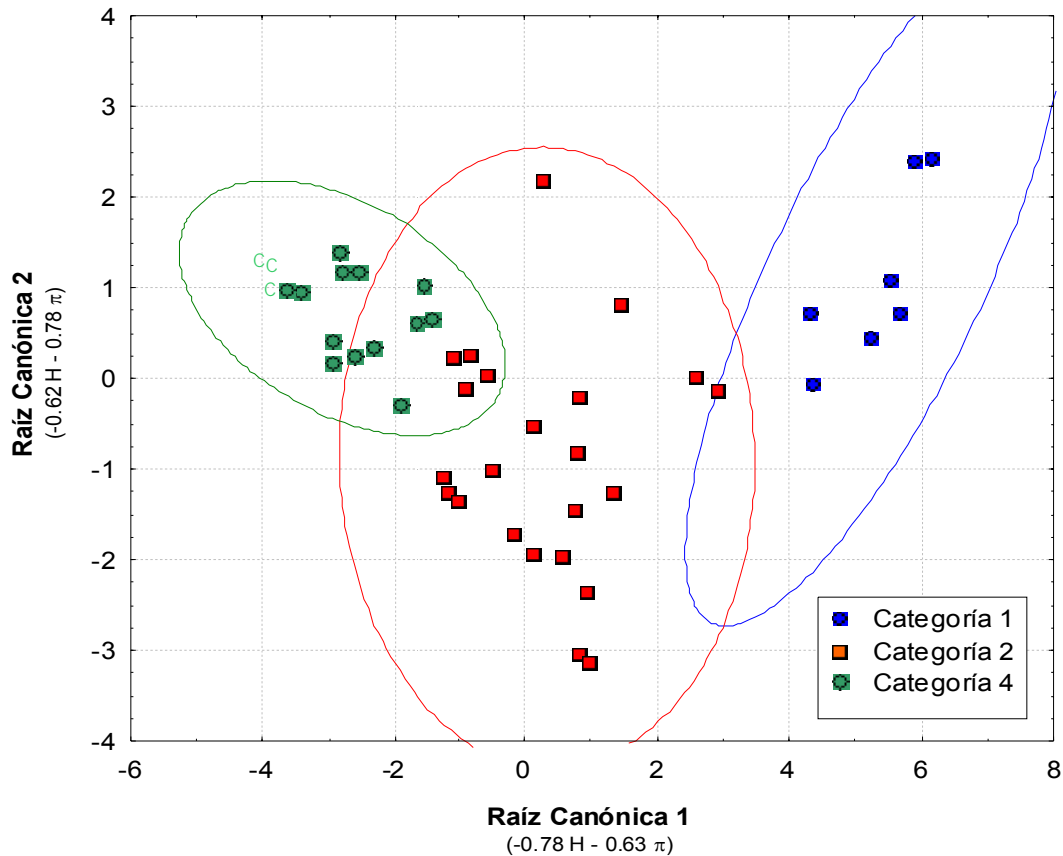
Nota: Se citan, a manera de ejemplos y con fines comparativos, algunas especies de sciánidos, familia a la que pertenece la corvina blanca: <sup>a</sup> Graves et al. (1992), <sup>b</sup> Lankford et al. (1999), <sup>c</sup> Rodrigues et al. (2008), <sup>d</sup> Seyoum et al. (2000), Santos *et al.* (2006)

Debido a que en su análisis, Grant y Bowen no especifican intervalos de confianza para cada categoría, se realizó un análisis discriminante con los valores de diversidad haplotípica ( $H$ ) y nucleotídica ( $\pi_n$ ) reportados por estos y otros autores (Anexo 2; Tabla VIII). Este análisis asignó correctamente todos los casos clasificados *a priori* en las categorías arriba mencionadas (Lamda de Wilks = 0.064,  $p=0.00$ ) e indicó que la corvina blanca queda bien clasificada dentro de la categoría 4 (Tabla VIII, Figura 5). Esto sugiere, de nueva cuenta y en contraste a lo que indicó el análisis de diferencias pareadas (Tabla V), que la población de corvina blanca exhibe una historia demográfica que corresponde a la de una población grande y estable.

**Tabla VIII.** Matriz de clasificación del análisis discriminante para valores de diversidad genética en diversas especies de peces marinos.

	Porcentaje de casos correctamente clasificados	Categoría 1 15.22%	Categoría 2 50.00%	Categoría 4 34.78%
Categoría 1	100	7	0	0
Categoría 2	100	0	23	0
Categoría 4	100	0	0	16
Total	100	7	23	16

**Nota:** El valor Lambda de Wilks resultó 0.06425 y fue significativo ( $p = 0.00$ ). La categoría 3 se excluyó por ser típicamente de especies de aguas continentales.



**Figura 5.** Dispersión bidimensional de acuerdo a los valores canónicos generados en el análisis discriminante. Las categorías a las que se hace referencia se basan en los criterios planteados por Grant y Bowen (1998). Los cuadros azules corresponden a las especies de la categoría 1, los cuadros rojos a las de la categoría 2 y cuadros verdes a aquellas de la categoría 4. Las elipses representan los intervalos de confianza para cada categoría al 95%. Los valores de diversidad genética y las respectivas fuentes de los datos se detallan en el Anexo 2. Los valores para corvina blanca obtenidos en este trabajo se indican con una letra C en color verde.

## DISCUSIÓN

La variabilidad genética estimada en el presente estudio para la corvina blanca *Atractoscion nobilis* de la costa occidental de la Península de Baja California y la costa de California puede considerarse alta al compararla con la de muchas otras especies marinas ( $H=0.96$ ,  $\pi_n= 0.0102$ ; ver Anexo 3; Grant y Bowen, 1998). Sin embargo, debido a que existen diferencias asociadas con la historia de vida de cada especie que influyen en la tasa de acumulación de sustituciones nucleotídicas (Martin y Palumbi, 1993), resulta más adecuado comparar los valores de diversidad entre especies filogenéticamente cercanas y con demografías similares.

Al igual que la corvina blanca, muchos otros miembros de la familia Sciaenidae son explotados comercial y recreativamente debido a su gran abundancia, su alto valor nutricional y la buena aceptación por parte del consumidor (Carpenter, 2002). La corvina blanca exhibió una diversidad genética menor a la reportada para *Sciaenops ocellatus* ( $H=0.98$ ,  $\pi_n= 0.0300$ , Seyoum *et al.*, 2000) y *Macrodon ancylodon* ( $H=0.91$ ,  $\pi_n= 0.0190$ ; Santos *et al.*, 2006), ambas explotadas comercialmente pero cuyas poblaciones presentan una marcada estructura genética y son muy abundantes. En contraste, presentó niveles de diversidad genética más altos que los de *Micropongius undulatus* ( $H=0.47$ ,  $\pi_n= 0.0043$ ; Lankford *et al.*, 1999) y *Cynoscion acoupa* ( $H=1.0$ ,  $\pi_n= 0.0035$ ; Rodrigues *et al.*, en prensa), sciánidos también explotados comercialmente pero que conforman poblaciones continuas, genéticamente homogéneas y de menor tamaño. Como se discutirá más adelante, la corvina blanca tiene una población con características intermedias a las de estos sciánidos y que explican satisfactoriamente los niveles de diversidad que presenta.

Aún cuando el decremento paulatino en los volúmenes de captura de corvina blanca durante mediados del siglo pasado y el colapso de la pesquería en 1980 se ha considerado consecuencia de la sobrepesca (Allen *et al.*, 2007), existe también otro factor fuertemente relacionado con la reducción en la abundancia: las fluctuaciones naturales producto de las condiciones ambientales (Harvey, 2001).

Los altos valores de diversidad detectados en este estudio para la corvina blanca no corresponden a los de especies que hayan sufrido una reducción drástica en su abundancia (Anexo 3; Grant y Bowen 1998). Las poblaciones de pelágicos menores (sardinias, arenques, anchovetas) se caracterizan por sufrir colapsos en respuesta a condiciones ambientales adversas, aunque estas tienden a recuperarse tiempo después (Hedgecock, 1994; Wolf *et al.*, 2001). La disminución de la densidad poblacional puede causar la pérdida de linajes maternos y reducir la variabilidad genética, pero una amplia varianza en el éxito reproductivo puede reducir el tamaño genético efectivo de la población sin realmente reducir la abundancia. Estas fluctuaciones, sin embargo, se traducen en bajos niveles de diversidad ( $H=0.8-0.9$ ,  $\pi_n= 0.005$ ; Categoría 1; Grant y Bowen, 1998) que son reflejo de la combinación del efecto de la deriva génica que se intensifica al reducirse el número de individuos y de la varianza en el éxito reproductivo de ciertos linajes maternos (haplotipos). Valores tan bajos de diversidad contrastan con los encontrados en la corvina blanca, lo que permite inferir que su población no parece haberse reducido de manera importante durante su historia evolutiva.

Ahora bien, la diversidad genética invariablemente disminuye cuando una población declina, pero esta no disminuye tan rápido como lo hacen los niveles de abundancia a menos de que haya sufrido un cuello de botella reciente (Baker y Clapham, 2004).

Aunque el colapso que sufrió la pesquería de corvina blanca en 1980 se considera consecuencia de la sobrepesca (Hedgecock, 2004; Allen *et al.*, 2007), el incremento en los niveles de abundancia de esta especie en los últimos 10 años se ha interpretado como un signo de recuperación (Allen *et al.*, 2007). Los valores aquí estimados de diversidad genética para la corvina blanca no podrían ser explicados por un rápido crecimiento poblacional y la acumulación de sustituciones nucleotídicas (p.e. Categoría 2; Grant y Bowen 1998). Esto se debe a que la tasa de sustitución del ADN mitocondrial en peces se ha estimado en alrededor de 3.5% por cada millón de años (Donaldson y Wilson, 1999), dejando fuera toda posibilidad de que la diversidad genética se haya recuperado dentro del marco temporal que atañe a la historia de esta pesquería.

Entonces, una posible explicación para los niveles de diversidad detectados en la corvina blanca pudiera ser que la abundancia de la población previa a las capturas era de una magnitud tal, y en la que las variantes genéticas estaban amplia y homogéneamente distribuidas, que la “sobre-explotación” no haya tenido un efecto significativo sobre la diversidad genética de la población, reteniendo gran parte de su polimorfismo ancestral.

Una evidencia que apoya que la densidad demográfica de corvina blanca es alta, resulta de la comparación de la razón del número de haplotipos con respecto al número de individuos muestreados (Tabla III). Esta razón es similar a la de *Sciaenops ocellatus* ( $n= 209$   $nH= 134$  Razón= 0.64) (Seyoum *et al.*, 2000), cuya población reproductora ha sido estimada en 14 millones de individuos aproximadamente. A su vez, también resulta similar a la de *Macrodon ancylodon* ( $n= 130$   $nH= 43$  Razón=0.41) que a pesar de no haber sido censada, su densidad demográfica se calcula dentro del mismo orden de magnitud (Santos *et al.*, 2006).

Evidencias de la ausencia de estructura genética, que apoyarían el escenario planteado anteriormente, son el pobre sustento de la topología del árbol filogenético (Fig. 2) y la arquitectura balanceada de la red de la mínima dispersión de los haplotipos maternos (Fig. 3). Ambos análisis concuerdan con los resultados obtenidos del análisis de estructura genética (Tabla IV) e indican que los niveles de flujo génico entre las corvinas blancas de las localidades estudiadas han sido suficientes para prevenir una fuerte divergencia genética entre los haplotipos de ambas localidades.

Esta homogeneidad en la población de corvina blanca podría explicarse simplemente por el hecho de que en peces marinos el flujo de genes es mayor que en especies de agua dulce, al no existir barreras geográficas tan evidentes en el ambiente marino (Harvey, 2001).

Aún cuando la distribución de la diversidad genética en peces marinos es muy variable, las especies de gran movilidad aseguran un flujo génico efectivo suficiente que previene el establecimiento de estructura genética. Mientras tanto, las especies que están confinadas a áreas del mar geográficamente definidas, permiten la acumulación diferencial de la variabilidad genética y por ende una estructura poblacional espacial (Mustafa, 1999). Poder ubicar a la corvina blanca en alguno de estos dos grupos de peces resulta complicado, pues aunque se caracteriza por ser un pez migratorio (Vojkovich y Reed, 1983), los estudios de marcaje realizados por Buhr (2003) indican que mientras algunos individuos pueden recorrer hasta 136 km en seis meses, otros permanecen en áreas definidas al menos por 6 años.

La ausencia de estructura genética encontrada en el presente estudio, sugiere que la corvina blanca que se distribuye entre la porción central de la Península de Baja California y las costas de California conforman una única población, apoyando las observaciones de Buhr (2003) con referencia a que la

población se encuentra centralizada entre Punta Concepción en California y Bahía Ballenas en la costa occidental de la península de Baja California.

Es importante tomar en cuenta que la homogeneidad genética entre agrupaciones de diferentes regiones no siempre implica que no existan varios stocks separados (Harvey, 2001). El haber encontrado haplotipos exclusivos de corvina blanca en cada una de las localidades aquí estudiadas, sugiere la posibilidad de que exista más de un stock. Esta última observación apoyaría la idea de Moser (1983), Vojkovich y Crooke (2001) y Williams (2006), de que el núcleo de la población es la porción central de Baja California, México y de que existe cierta mezcla de organismos entre California y México. No obstante, al comparar la razón  $nH/n$  y la diversidad nucleotídica de Baja California con la obtenida en California vemos que ambas son ligeramente superiores en las costas mexicanas (Tabla III). Esto sugiere un mayor tamaño poblacional y un mayor número de linajes maternos en BC, por lo que presuntamente es esta la zona de mayor importancia en términos del número de reproductores y de conservación de la diversidad genética.

En resumen, la alta diversidad genética y la ausencia de estructura genética que resultaron del presente estudio, sugieren que la población de corvina blanca que se distribuye entre Guerrero Negro, B.C.S., México, y California, EE.UU., es una población grande, genéticamente homogénea y demográficamente estable (Tablas III, IV y V; Figs. 3, 4 y 5; Categoría 4; Grant y Bowen 1998).

Ante este último escenario, queda entonces la siguiente interrogante: ¿Cuál fue la causa del colapso en la pesquería de corvina blanca en las costas de California si era un recurso tan abundante?

Una posible explicación sería que la reducción en la abundancia de corvina blanca haya sido solo aparente, reduciendo tan sólo la disponibilidad del recurso a la pesquería. Las series de tiempo de los fenómenos oceanográficos

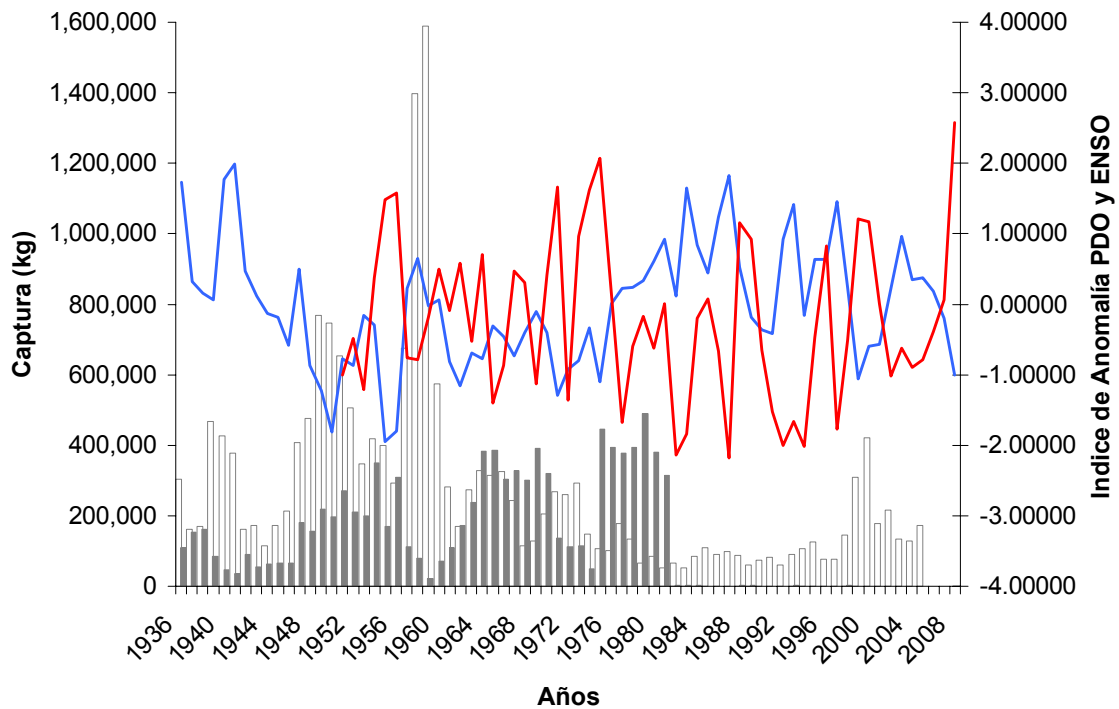
a gran escala que ocurren en el Océano Pacífico Nororiental, la Oscilación Sureña El Niño (ENSO) y la Oscilación Decadal del Pacífico (PDO), aportan cierta evidencia que podría sustentar dicho escenario.

Aunque este aspecto rebasa los objetivos del presente trabajo, y a reserva de que sería necesario explorar más a detalle la relación de estos fenómenos con la pesquería de la corvina blanca, existe una aparente relación entre la fase fría de la PDO y los valores positivos de la anomalía ENSO con la abundancia de esta especie (Figura 6). La fase fría (valores negativos) de la PDO favorece la productividad en la costa oeste de Norteamérica, mientras que la fase cálida (valores positivos) la inhibe (Zhang *et al.*, 1997; Mantua *et al.*, 1997). Por su parte, los eventos ENSO de mayor intensidad (valores de anomalía positiva) provocan que especies tropicales y subtropicales desplacen su distribución hacia latitudes mayores (Fiedler, 2002) y favorece el reclutamiento de especies que se distribuyen típicamente en aguas más cálidas (Lenarz *et al.*, 1995) y particularmente el de la corvina blanca (Williams *et al.*, 2006; Allen *et al.*, 2007). Es probable entonces que la combinación de ambos fenómenos, fase fría del PDO y anomalías positivas del ENSO, tenga un efecto temporal aditivo y positivo sobre la abundancia de la corvina blanca en las costas de California, escenario que sería congruente con el de una población de tamaño moderado y demográficamente estable en la que se presenten importantes fluctuaciones de escala decadal en sus capturas que generan una mezcla temporal entre los organismos de ambas localidades favoreciendo la homogeneidad poblacional.

Esto explicaría, la existencia de la gran cantidad de haplotipos exclusivos a cada localidad que generan pequeñas diferencias, que aunque no son significativas, están sugiriendo una diferenciación espacial que posiblemente queda opacada por los eventos oceanográficos de gran escala que tienden a homogenizar la diversidad genética al poner en contacto esporádicamente los stocks de ambas localidades. Patrones similares en los que la diversidad es

mayor hacia los trópicos y menor hacia los polos se encontraron en *Macrodon ancylodon* (Santos et al., 2006).

En una población con dichas características, el efecto de la pesca no impactaría de manera importante la diversidad genética de la población y las migraciones temporales serian suficientes para eliminar cualquier diferencia genética significativa entre dos agregaciones reproductoras.



**Figura 6.** Serie de tiempo comparativa de los fenómenos oceanográficos del Océano Pacífico Nororiental y la captura de corvina blanca. La Oscilación Sureña El Niño (ENSO) esta representada en línea roja (datos tomados de NOAA, <http://www.cpc.ncep.noaa.gov/data/indices>) y la Oscilación Decadal del Pacífico (PDO) en línea azul (datos tomados de Mantua, *et al.* 1997; Zhang, *et al.* 1997). Las barras grises y blancas corresponden a la captura en las costas de BC y de CC respectivamente.

## Recomendaciones

Los altos valores de diversidad genética y la ausencia de estructura poblacional resultante del presente estudio permiten plantear que la probabilidad de que el programa de repoblación de corvina blanca que se desarrolla en el sur de California tenga un impacto directo sobre la distribución de las variantes genéticas es mínima. Sin embargo, se recomienda que dicho programa incluya a algunos de los haplotipos exclusivos de aguas costeras mexicanas dentro de su stock reproductor, buscando con ello que el tamaño efectivo de las poblaciones de criadero sea lo más amplio posible y de esta forma demorar la inevitable pérdida de la variabilidad genética.

Es necesario mencionar, que no sólo es importante preservar el mayor número de haplotipos, sino también mantener la frecuencia relativa encontrada en la población silvestre. Para ello, el perfil genético de la progenie de los desoves del programa de repoblación, debe ser controlado durante períodos prolongados de tiempo, asegurando que los niveles de variabilidad genética se mantengan y evitando generar, de forma artificial, diferencias en la producción de progenie entre los linajes del cultivo y en consecuencia del stock silvestre. Del mismo modo, se podría determinar si las estrategias de liberación de este programa tienen éxito en el aumento de la población y en la adaptabilidad de los organismos de cultivo, ya que, esto tiene consecuencias importantes para las acciones de manejo y gestión eficaz.

El ADNmt resultó ser una herramienta muy eficaz para la recopilación de información en análisis de genética poblacional, sin embargo es importante reconocer que el tamaño de la muestra empleada en este estudio fue limitado, por lo que se recomienda ampliar el número de individuos de cada localidad, así como incluir otras localidades a lo largo de la distribución de la especie para una evaluación más rigurosa de la situación de *Atractoscion nobilis*. Por otra parte, el uso de marcadores genéticos de mayor resolución temporal que

podrían reflejar eventos recientes en la dinámica de la población de corvina blanca, ayudaría para realizar un monitoreo del programa de repoblación, además de que generarían mas datos genéticos que corroborarían el escenario aquí planteado. Esto sería de gran valor para establecer un claro panorama de la distribución, la dinámica, los alcances de la migración y el desove, lo que ayudaría a comprender de mejor manera los atributos genéticos de la población y su historia evolutiva, estableciendo con ello una línea de base mucho más sólida para el diseño de las estrategias de manejo de este importante recurso pesquero.

## CONCLUSIONES

- Con base en el polimorfismo de las secuencias de la región control del ADNmt, puede concluirse que la corvina blanca que habita en las costas del Sur de California, EE.UU. y de Baja California Sur, México exhibe una alta diversidad genética.
- La corvina blanca que habita entre las costas del Sur de California, EE.UU. y Baja California Sur, México conforman una única población con un alto nivel de conectividad entre ellas. No obstante, la gran cantidad de haplotipos exclusivos a cada localidad sugiere la existencia de pequeñas diferencias a nivel local que eventualmente pudieran diluirse por el efecto combinado de eventos oceanográficos a gran escala.
- La historia demográfica reconstruida a partir de los datos moleculares de corvina blanca, sugieren que su población ha sido abundante y estable a lo largo del tiempo evolutivo.
- Aparentemente las fluctuaciones históricas en la abundancia de corvina blanca de las costas de California EE.UU., están muy relacionadas con cambios oceanográficos a gran escala (PDO y ENSO).
- En conjunto, los resultados de los análisis realizados sugiere la existencia de un único stock en el que la mayor parte de la diversidad genética y probablemente la mayor abundancia ocurre en las costas de la Península de Baja California, por lo que se recomienda que el programa de repoblación en vigor tome en cuenta los haplotipos exclusivos de estas costas para preservar el mayor número de variantes genéticas.

## REFERENCIAS

- Allen L.G., D.J. Pondella y M.A. Shane. (2007). Fisheries independent assessment of a returning fishery: Abundance of juvenile white seabass (*Atractoscion nobilis*) in the shallow nearshore waters of the Southern California Bight, 1995–2005. California State University. Fisheries Research, Vol. 88: 24-32.
- Avise, J.C. (1994). Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, London. 551 pp.
- Bartley, D.M. (1995). FAO Departamento de Pesca: Seguridad alimentaria y conservación de la biodiversidad. Resultados de la Conferencia de Kyoto y documentos presentados. Kyoto, Japon. Diciembre 4-9.
- Bartley, D.M. y D.B. Kent. (1990). Genetic structure of white seabass populations from the southern California bight region: applications to hatchery enhancement. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Rep., Vol. 31.
- Bielawski, J.P. y D.E. Pumo. (1997). Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of Atlantic Coast striped bass. Heredity, Vol. 78: 32-40.
- Bruton, M.N. (1995). Have fishes had their chips? The dilemma of threatened fishes. Environmental Biology of Fishes, Vol. 43: 1-27.
- Buhr, J. (2003). The Biogeography of the White Sea Bass (*Atractoscion nobilis*). EUA: San Francisco State University. 12 pp.
- Castro-Aguirre J.L., A.L. González-Acosta, J. De la Cruz-Agüero. (2005). Lista anotada de las especies Icticas anfi-pacíficas, de afinidad boreal, endémicas y anfi-peninsulares del Golfo de California, México. Uciencia 21, Vol. 42: 85-106.
- Clifford, S.L., P. McGinnity, y A. Ferguson. (1998a). Genetic changes in an Atlantic salmon *Salmo salar* L. population resulting from escapes of juvenile farm salmon. Journal of Fish Biology, Vol. 52: 118–127.

- Clifford, S.L., P. McGinnity, y A. Ferguson. (1998b). Genetic changes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations of Northwest Irish rivers resulting from escapes of adult farm salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 55: 358-363.
- Craig, M.T., F.J. Fodrie y P. Hastings. (2004). The Nearshore Fish Assemblage of the Scripps Coastal Reserve, San Diego, California. *Coastal Management*, Vol. 32: 341-351.
- Excoffier, L., P. Smouse y J. Quattro. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, Vol. 131: 479-491.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. (2006). Arlequín Ver 3.1 User Manual: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG). Institute of Zoology. University of Berne. Switzerland. 145 pp.
- Frankham, R. (2008). Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*, Vol. 17: 325 - 333.
- Galarza, P.J.A. (2002). Aplicación de marcadores moleculares como estimadores de variabilidad genética poblacional de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) en cautiverio y medio natural. Tesis de Maestría. UABC. Ensenada Baja California, México. 45 pp.
- Graves, J.E., J.R McDowell y M.L. Jones. (1992). A genetic análisis of weakfish *Cynoscion regalis* stock structure along the mid-Atlantic coast. *Fishery Bulletin*, Vol. 90:469-475.
- Graves, J.E. (1997). Molecular Insights Into the Population Structures of Cosmopolitan Marine Fishes. *The American Genetic Association*, Vol. 89: 427-437.
- Hanan, D., M. Larson, M. Horeczko, M. Ellsworth, A. Vejar, C. Valle, C. Chan, L. Laughlin, S. Crooke, M. Fluharty, T. Barnes, C. Pattison, C. Dawson, D. Aseltine-Neilson. (2001). White Seabass Fishery Management Plan (WSFMP). California Department of Fish and Game, Marine Region. 134 pp.

- Hansen, M.M., D.E. Ruzzante, E.E. Nielsen y K.L. Mensberg. (2000). Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life-history dependent interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta L.*). *Molecular Ecology*, Vol. 9: 583–594.
- Harvey, B. (2001). Proceedings of the international workshop founded by UNEP and IDRC “Blue Millennium: Managing Global Fisheries for Biodiversity”. Victoria, B.C. Biodiversity and Fisheries. 53 pp.
- Hedgecock, D. (2004). Quantifying and Minimizing the Risk that Hatchery Enhancement Will Reduce Genetic Diversity of White Seabass. Sea Grant California. Fisheries research and development, Vol. R/F-184: 3.1.2001–8.31.
- Hindar, K., N. Ryman, y F.M. Utter. (1991). Genetic effects of cultured fish on natural fish populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 48: 945–957.
- Hoelzel, A.R., J.M. Hancock y G.A. Dover. (1991). Evolution of the cetacean mitochondrial D-Loop region. *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 8(3): 475-493.
- Iguchi, K., K. Watanabe y M. Nishida. (1999). Reduced mitochondrial DNA variation in hatchery populations of ayu (*Plecoglossus altivelis*) cultured for multiple generations. *Aquaculture*, Vol. 178: 235-243.
- Johnson, R. (1994). *Applied Multivariate Statistical Analysis*. Madison, Third Edition, pp. 459-491.
- Kapuscinski, A.R y L.M. Miller. (2007). Genetic guidelines for fisheries management. 2<sup>nd</sup> Edition. Department of Fisheries, Wildlife, and Conservation Biology. University of Minnesota. 116 pp.
- Koh T.L., G. Khoo, L.Q. Fan y V.P.E. Phang. (1999). Genetic diversity among wild forms and cultivated varieties of Discus (*Symphysodon ssp.*) as revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprinting. *Aquaculture*, Vol. 173: 485-497.

- Lankford, T.E., T.E. Targett y P.M. Gaffney. (1999). Mitochondrial DNA analysis of population structure in the Atlantic croaker, *Micropogonias undulates* (Perciformes: Sciaenidae). *Fishery Bulletin*, Vol. 97:884-890.
- Lenarz, W.H., D.A. Ventresca, W.M. Gram., F.B. Schwing y F. Chavez. (1995). Explorations of El Niño events and associated biological population dynamics Off central California. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Rep*, Vol. 36. 14pp.
- Mantua, N.J, S.R. Hare, Y. Zhang, J.M. Wallace, y R.C. Francis. (1997). A Pacific interdecadal climate oscillation with impacts on salmon production. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 78 pp. 1069-1079.
- Marcano, J.E. (2007). Educación Ambiental. Recursos Naturales: Recursos Marinos. 2 pp.
- Martin, A.P. y S.R. Palumbi. (1993). Body size, metabolic rate, generation time and the molecular clock. *Evolution*, Vol. 90: 4087-4091.
- Martins, C., A.P. Wasko, C. Oliveira y F. Foresti. (2003). Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongates* from the Paraná River basin. *Genetics and Molecular Biology*, Vol. 26.1: 33-38.
- Moran, P. (2002). Current conservation genetics: building an ecological approach to the synthesis of molecular and quantitative genetic methods. *Ecology of Freshwater Fish*, Vol. 11: 30–55.
- Moser, G.H., D.A. Ambrose, M.S. Busby, J.I. Butle, S.M. Sandknop, B.Y. Sumida y E.G. Stevens. (1983). Description of early stages of white seabass, *Atractoscion nobilis*, with notes on distribution. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Rep.*, Vol. 24. 12 pp.
- Mousset, S., N. Derome y M. Veuille. (2004). A Test of Neutrality and Constant Population Size Based on the Mismatch Distribution. Universidad “Pierre et Marie Curie”. Paris, Francia. 26 pp.
- Mustafa, S. (1999). Genetics in sustainable fisheries management. Fishing new books. Malaysia. 225 pp.

- Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York. 512 pp.
- Nielsen, J.L., C.A. Gan, J.M. Wright, D.B. Morris y K. Thomas. (1995). Biogeographic distributions of mitochondrial and nuclear markers for southern steelhead. *Molecular Marine Biology Biotechnology*, Vol. 3: 281-293.
- Noack K., R. Zardoya y A. Meyer (1996). The Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Bichir (*Polypterus ornatipinnis*), a Basal Ray-Finned Fish: Ancient Establishment of the Consensus Vertebrate Gene Order. *Genetics Society of America*, New York. 16 pp.
- Perez-Enriquez, R., M. Takagi y N. Taniguchi. (1999). Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA markers. *Aquaculture*, Vol. 173: 413-423.
- Posada, D. y K.A. Crandall. (1998). MODELTEST: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics Applications Notes*, Vol. 14 (9): 817-818.
- Reilly, A., N.G. Elliott, P.M. Grewe, C. Clabby, R. Powell y R.D. Ward. (1999). Genetic differentiation between Tasmanian cultured Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and their ancestral Canadian population: comparison of microsatellite DNA and allozyme and mitochondrial DNA variation. *Aquaculture*, Vol. 173: 459-469.
- Reisenbichler, R.R. y J.D. McIntyre. (1997). Genetic differences in growth and survival of juvenile hatchery and wild steelhead trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, Vol. 34: 128.
- Rodrigues, R., H. Schneider, S. Santos, M. Vallinoto, U. Saint-Paul y I. Sampaio. (2008). Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish (*Cynoscion acoupa*, Sciaenidae) from the northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, In press.

- Rzhetsky, A. y M. Nei. (1993). Theoretical foundation of the minimum evolution method of phylogenetic inference. *Molecular Biology Evolution*, Vol. 10: 1073-1095.
- Santos, S., T. Hrbek, I.P. Farias, H. Schneider y I. Sampaio. (2006). Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Molecular Ecology*, Vol. 15: 4361–4373.
- Schneider, S., J.M. Kueffer, D. Roessli y L. Excoffier. (1997). Arlequin v.1.1: A software for population genetic data analysis. Genetic and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland. 145 pp.
- Seyoum, S., D. McElroy y R. Stokes. (1999). An analysis of genetic population structure in red drum, *Sciaenops ocellatus*, based on mtDNA control region sequences. *Fishery Bulletin*, Vol. 98: 127 – 138.
- Shane, M.A., M.A. Drabridge y D.B. Kent. (2006). Movements of cultured white seabass, *Atractoscion nobilis*, released throughout the Southern California Bight. Abstracts of the Third International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching. Seattle, WA, USA. September 18-21
- Sivasundar, A., E. Bermingham y G. Orti. (2001). Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (Prochilodus: Characiformes) in major South American rivers. *Molecular Ecology*, Vol. 10: 407-417.
- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics*, Vol. 105:437-460.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei y S. Kumar. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 24:1596-1599.
- Thomas, J.C. (1968). Management of the white seabass (*Cynoscion nobilis*) in California waters. California Department of Fish and Game. *Fishery Bulletin*, Vol. 142: 34 pp.

- Vojkovich, M. y M.J. Reed. (1983). White seabass, *Atractoscion nobilis*, in California-Mexican waters: Status of the fishery. Marine Resources Branch California Department of Fish and Game. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Rep., Vol. 24: 79-83.
- Vojkovich, M. y S. Crooke. (2001). White seabass. In California's living marine resources: a status report, W. S. Leet, C. M. Dewees, R. Klingbeil, and E. J. Larson, eds. University of California. Agriculture, Vol. SG01-11, 206–208 pp.
- Waples, R.S. (1991). Genetic interactions between hatchery and wild salmonids: Lessons from the Pacific North-west. Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences, Vol. 48 (1): 124-133.
- Waples, R.S. y C. Do. (1994). Genetic risk associated with supplementation of Pacific salmonids: captive broodstock programs. Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences, Vol. 51: 310–329.
- Was, A. y R. Wenne. (2002). Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the Southern Baltic at microsatellite loci. Aquaculture, Vol. 204: 493-506.
- Weir, B.S. y C.C. Cockerham. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, Vol. 38: 1358-1370.
- Williams, J.P. (2006). The relationship between el niño/southern oscillation events and growth of juvenile white seabass (*Atractoscion nobilis*) in the southern California bight from 1997 to 2004. California State University. 53 p.p.
- Yoon, J.M. y H.Y. Park. (2002). Genetic similarity in the cultured and wild Crucian carp (*Carassius carassius*) estimated with random amplified polymorphic DNA. Asian-Australasian Journal Animal Science, Vol. 15: 470-476.
- Zhang, Y., M.J. Wallace, y D.S. Battisti. (1996). ENSO-like Interdecadal Variability: 1900–93. Journal of climate, Vol. 10: 1004 – 1020.

## **Anexo I. Extracción y purificación de ADN (Técnica Sales-CTAB)**

### *Reactivos necesarios:*

Solución amortiguadora de sales A

Solución amortiguadora de CTAB

LiCl 5 M

Cloroformo: alcohol isoamílico (24:1 v/v)

Isopropanol 99%

Etanol 70%

Solución amortiguadora de almacenamiento

Solución amortiguadora de sales A:

Tris-HCl pH 8.0 200 mM

NaCl 250 mM

EDTA pH 8.0 25 mM

SDS al 0.5%

Solución amortiguadora de CTAB:

Tris-HCl pH 8.0 100 mM

EDTA pH 8.0 25 mM

CTAB al 2.0%

PVPP al 0.1%

SDS al 0.1%

$\beta$ -ME al 0.2% (agregar justo antes de empezar la solución)

Solución amortiguadora de almacenamiento

Tris-HCl 5.0% mM, pH 8.0

EDTA 0.1 mM, pH 8.0

## Procedimiento:

1. Cortar el tejido en fragmentos pequeños y pesar aproximadamente de 10 a 30 mg; colocar esta cantidad en un tubo de 1.5 ml estéril.
2. Agregar 175  $\mu$ l de la solución de sales y homogeneizar con ayuda de un pistilo plástico estéril. El uso de una cantidad mayor de tejido requerirá de un mayor volumen de solución, por lo que se recomienda no colocar más de 30 mg.
3. Asegurarse que los tubos estén perfectamente tapados e incubarlos a una temperatura de entre 30 y 50° C hasta que el tejido se digiera (esto puede variar dependiendo del tipo de tejido entre 25 minutos y 3 horas).
4. Dejar enfriar los tubos a temperatura ambiente mientras se calienta la solución de CTAB a 65° C.
5. Agregar 125  $\mu$ l de solución de CTAB; agitar brevemente los tubos e incubar a 65° por 10-15 minutos.
6. Añadir 300  $\mu$ l de LiCl 5 M; agitar vigorosamente e incubar 5 minutos a temperatura ambiente.
7. Centrifugar a 12, 000 X g por 5 minutos.
8. Recuperar en un nuevo tubo de 1.5 ml entre 500 y 550  $\mu$ l de mezcla. Evitar acarrear *debris* del fondo o la nata que se forma sobre la mezcla de extracción.
9. Agregar 550  $\mu$ l de Cloroformo: alcohol isoamílico a la fracción recuperada; mezclar vigorosamente por algunos segundos y centrifugar a 12, 000 x g durante 10 minutos.
10. Recuperar aproximadamente 500  $\mu$ l del sobrenadante (fase acuosa) en un nuevo tubo de 1.5 ml. Evitar succionar con la pipeta la solución subyacente (fase orgánica).
11. Agregar 500  $\mu$ l de isopropanol al 99%, tapar el tubo, agitar vigorosamente durante al menos segundos e incubar a -70° C por 10 minutos.
12. Centrifugar a 12, 000 x g por 15 minutos.
13. Generalmente, puede apreciarse el ADN precipitado en el fondo del tubo. Decantar el alcohol cuidando que el precipitado no se despegue de la pared del tubo.
14. Agregar 500  $\mu$ l de etanol al 70% y centrifugar por 5 minutos a 12, 000 x g.
15. Decantar de nuevo el alcohol y dejar secando los tubos abiertos e invertidos sobre papel secante durante unos 5 minutos.
16. Secar en la centrifuga al vacío a 55-60° C por 15 minutos.
17. Resuspender el ADN en 30  $\mu$ l de solución amortiguadora de almacenamiento.
18. Guardar a 4° C si el ADN se va a utilizar inmediatamente o almacenar a -20° C.

**Anexo I. Diversidad genética y valores de las raíces canónicas del análisis discriminante para los grupos propuestos por Grant y Bowen (1998).**

Grupo	Nombre científico	H	$\pi$	Fuente Bibliografica	Raiz 1	Raiz 2
1	<i>Gadus morhua</i>	0.3000	0.0013	Carr <i>et al.</i> , 1995.	5.694	0.718
	<i>Gadus morhua</i>	0.3600	0.0018	Zwanenburg <i>et al.</i> , 1992.	5.233	0.430
	<i>Macruronus novaezealandiae</i>	0.2800	0.0008	Baker <i>et al.</i> , 1995.	5.525	1.070
	<i>Micropogonias undulatus</i>	0.4700	0.0043	Lankford <i>et al.</i> , 1999	4.366	-0.080
	<i>Pomatomus saltatrix</i>	0.1100	0.0007	Graves <i>et al.</i> , 1992	6.162	2.417
	<i>Lutjanus campechanus</i>	0.1300	0.0013	Camper <i>et al.</i> 1993	5.917	2.394
	<i>Sebastes capensis</i>	0.4000	0.0016	Rocha-Olivares <i>et al.</i> , 1999.	4.328	0.714
2	<i>Anaocypris hispanica</i>	1.0000	0.0065	Alves <i>et al.</i> , 2001.	0.966	-3.153
	<i>Cynoscion acoupa</i>	1.0000	0.0035	Rodrigues <i>et al.</i> , 2008	0.828	-3.043
	<i>Decapterus sp.</i>	0.5800	0.0018	Graves, 1998.	2.946	-0.149
	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	0.9300	0.0071	Orti <i>et al.</i> , 1994.	0.928	-2.360
	<i>Istiophorus albicans</i>	0.5900	0.004	Graves, 1998.	2.616	0.004
	<i>Larabicus quadrilineatus</i>	0.8000	0.0038	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	1.350	-1.278
	<i>Larabicus quadrilineatus</i>	0.9200	0.0064	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	0.567	-1.963
	<i>Larabicus quadrilineatus</i>	0.8600	0.0054	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	0.752	-1.456
	<i>Larabicus quadrilineatus</i>	0.9500	0.0079	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	0.130	-1.942
	<i>Larabicus quadrilineatus</i>	0.8000	0.0038	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	0.798	-0.838
	<i>Larabicus quadrilineatus</i>	0.9500	0.0082	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	-0.146	-1.723
	<i>Makaira nigricans</i>	0.7400	0.0033	Finnerty y Block 1992.	0.844	-0.220
	<i>Makaira nigricans</i>	0.6000	0.0016	Finnerty y Block 1992.	1.458	0.818
	<i>Makaira nigricans</i>	0.8200	0.0029	Finnerty y Block 1992.	0.138	-0.531
	<i>Makaira nigricans</i>	0.9100	0.0059	Graves, 1998.	-0.484	-1.018
	<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	0.9800	0.0227	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	-0.998	-1.372
	<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	0.9800	0.0192	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	-1.136	-1.262
	<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	0.9700	0.0044	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	-1.221	-1.086
	<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	0.8200	0.0007	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	-0.553	0.019
	<i>Sebastes helvomaculatus</i>	0.8570	0.003	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	-0.890	-0.117
	<i>Tetrapturus audax</i>	0.8200	0.003	Graves, 1998.	-0.829	0.239
	<i>Thunnus albacares</i>	0.8400	0.0028	Graves, 1998.	-1.075	0.216
	<i>Thymallus articus</i>	0.5600	0.0011	Redenbach y Taylor, 1999.	0.292	2.182
4	<i>Acipenser sinensi</i>	0.9490	0.011	Zhang <i>et al.</i> , 2003	-1.936	-0.287
	<i>Lates calcarifer</i>	0.8230	0.032	Chenoweth <i>et al.</i> , 1998	-1.398	0.659
	<i>Leoporinus elongatus</i>	0.8480	0.022	Martins <i>et al.</i> , 2003	-1.670	0.603
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	0.8000	0.017	Gharrett <i>et al.</i> , 2001	-1.550	1.031
	<i>Pomatomus saltatrix</i>	0.9200	0.0109	Graves, 1998.	-2.333	0.345
	<i>Sciaenops ocellatus</i>	0.9500	0.025	Seyoum <i>et al.</i> , 2000	-2.632	0.256
	<i>Sciaenops ocellatus</i>	0.9800	0.03	Seyoum <i>et al.</i> , 2000	-2.932	0.168
	<i>Scomber japonicus</i>	0.9600	0.0248	Graves, 1998.	-2.962	0.410
	<i>Scomber sp.</i>	0.8600	0.019	Graves, 1998.	-2.563	1.183
	<i>Sebastes helvomaculatus</i>	0.8800	0.0099	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	-2.809	1.160
	<i>Sebastes helvomaculatus</i>	0.8620	0.0099	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	-2.850	1.390
	<i>Sebastes helvomaculatus</i>	0.9450	0.0116	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	-3.434	0.949
	<i>Totoaba macdonaldi</i>	0.9582	0.0132	Quezada <i>et al.</i> , Datos no publicados	-3.643	0.972
	<i>Atractoscion nobilis</i>	0.9715	0.0098	Este trabajo	-3.853	0.993
	<i>Atractoscion nobilis</i>	0.9500	0.0113	Este trabajo	-3.875	1.246
	<i>Atractoscion nobilis</i>	0.9597	0.0102	Este trabajo	-4.066	1.292

