

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS**



**Aproximación a los niveles de abundancia absoluta de la  
población de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) con base en un  
método de marcaje-recaptura genético.**

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA  
OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

**Karina Yaneth Cerda Balcázar**

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

Enero 2018

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS  
POSGRADO EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

**Aproximación a los niveles de abundancia absoluta de la población  
de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) con base en un método de  
marcaje-recaptura genético.**

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

**Karina Yaneth Cerda Balcázar**

Aprobada por

Dr. Luis Manuel Enriquez Paredes  
Director de tesis

Dra. Alicia Abadía Cardoso  
Sinodal

Dr. Conal David True  
Sinodal

# Contenido

<b>Agradecimientos</b> .....	v
<b>Resumen</b> .....	ix
<b>Abstract</b> .....	x
<b>Introducción</b> .....	1
<b>Materiales y Métodos</b> .....	7
Datos morfométricos .....	8
Obtención del ADN.....	9
Amplificación del conjunto de microsatélites para la asignación parental .....	10
Marcaje-captura-recaptura .....	11
Estimación absoluta: Simulación de dinámica poblacional .....	13
Estimación del tamaño efectivo de la población: Inferencia demográfica.....	14
<b>Resultados</b> .....	16
Distribución de frecuencias de edades .....	16
Amplificación del subconjunto de microsatélites y pruebas de paternidad.....	17
Estimación absoluta del tamaño poblacional: Tamaño censal .....	20
Estimación relativa del tamaño poblacional: Tamaño efectivo .....	25
<b>Discusión</b> .....	27
Consideraciones metodológicas .....	27
Tamaño censal de la población de totoaba .....	28
Tamaño efectivo de la población .....	33
Tamaño efectivo mínimo viable de una población.....	34
Estado actual de conservación de la totoaba .....	35
<b>Conclusiones</b> .....	37
<b>Referencias bibliográficas</b> .....	38
<b>Anexos</b> .....	51

## Lista de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Relación de los decomisos de totoaba de los que se obtuvieron datos morfológicos y muestras biológicas para la extracción de ADN. ....	8
<b>Tabla 2.</b> Liberaciones de totoaba realizadas por la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Universidad Autónoma de Baja California entre 1997 y 2015. ....	11
<b>Tabla 3.</b> Estimación de abundancia por el método de marcaje-recaptura a través de varios modelos. Los periodos sombreados son los que presentaron una recaptura. SD= Desviación estándar; C.V= Coeficiente de variación. La estimación corresponde al cohorte de un año de edad. ....	21

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Distribución de cohortes de edad de las muestras decomisadas entre 2013 y 2016 utilizadas en el presente estudio (gris claro), indicando aquellas con linajes mitocondriales presentes en las hembras mantenidas en cautiverio en la UBP-UABC. .... 17
- Figura 2.** Ejemplo del archivo de salida generado por el programa Gimlet en el que se indican los genotipos de la muestra de estudio que fueron asignados como progenie de los reproductores de la UBP-UABC. Los reproductores son identificados como “parent”, las muestras que no coinciden con los genotipos son identificadas como “orphan” y las recapturas muestran al par de progenitores con los que coincide el genotipo. .... 19
- Figura 3.** Simulación de Monte Carlo para el número de individuos de entre 1 y 30 años de edad en la población silvestre de totoaba. Las barras en color oscuro indican los intervalos de confianza al 95%. .... 22
- Figura 4.** Simulación de la demografía de la población de totoaba basada en la estimación de los individuos de un año de edad. La abundancia para grupo de edades y los intervalos de confianza se reconstruyeron con base en simulaciones Monte Carlo de las distribuciones teóricas de las tasas de mortalidad total reportadas para totoaba y otras especies de sciánidos con historias de vida similares (ver Anexo IV). El recuadro en color verde indica el grupo de adultos reproductores. .... 24
- Figura 5.** Distribuciones posteriores de los escenarios demográficos contrastados mediante inferencia Bayesiana en el programa MsVar. Las distribuciones trazadas con líneas negras representan el escenario de equilibrio demográfico, las rojas el escenario de reducción poblacional y las azules las de expansión poblacional. Las líneas verdes demarcan los intervalos de credibilidad para las estimaciones (HPD 95%), mientras que las modas se representan con líneas negras. .... 25
- Figura 6.** Distribuciones posteriores del tiempo desde que la población presentó el cambio demográfico. Se presentan la simulación efectuada bajo un escenario de estabilidad demográfica (línea negra), bajo un escenario de reducción poblacional (línea roja) y bajo un escenario de expansión demográfica (línea azul) Los intervalos de máxima credibilidad al 95%HPD están representados con las líneas verdes, mientras que la moda se representa con la línea negra. .... 26

## Lista de Anexos

<b>Anexo I.</b> Determinación de edad en totoaba con base en la longitud de la vejiga natatoria. ....	51
<b>Anexo II.</b> Panel de microsatélites empleados para la asignación de paternidad del presente estudio.....	54
<b>Anexo III.</b> Distribuciones y parámetros empleados para las simulaciones de Monte Carlo con las que se estimó la abundancia de la población silvestre de totoaba. ....	56
<b>Anexo IV.</b> Proyecciones de la estimación de abundancia por cohorte de edad. ....	57
<b>Anexo V.</b> Archivos de entrada con los parámetros empleados para el análisis de inferencia demográfica en el programa MsVar. ....	58

# Agradecimientos

Quién diría que empezar los agradecimientos resultaría aún más complicado que redactar el planteamiento del problema de este trabajo, inclusive, más complejo que encontrar al asesor en su cubículo. Pero eso sí, no es tan difícil como trabajar en colaboración con las dependencias gubernamentales nacionales.....

Partiendo del comienzo, como bien lo dijo Lewis Carroll en Alicia en el país de las maravillas: “Empieza por el principio – dijo el rey con gravedad – y continúa hasta que llegues al final: entonces para”, doy el primer paso con un gracias, muchas gracias.

Ya que esta expresión de agradecimiento presenta tantos matices, yendo desde los tonos más sinceros y honestos, hasta aquellas sonrisas brillantes que nacen ante una calificación apenas lograda, aseguro que estos agradecimientos pecan de veracidad.

Agradezco a aquellos dos caballeros de identidad no recordada, que se encontraban sentados en cierta barra tomando unas cervezas, por dejar unirme a su plática sobre los avances de marcadores moleculares y de los efectos del cuello de botella. A ellos, quienes resultaron ser mi brújula que no apuntaba al norte como punto cardinal, sino a mi norte académico, hasta la puerta con aquel letrero azul y letras blancas a medio despintar en las que se leía “Dr. Enríquez”. Gracias donde quiera que estén.

Al Doctor Luís Enríquez, dueño de aquel letrero, quien después de una primera plática muy breve y animada, siendo muy su estilo, encamino mi recorrido hasta este punto, integrándome al equipo de trabajo del Laboratorio de Ecología Molecular de la UABC.

Más allá de haberme haya aceptado como su alumna, le agradezco el que haya sido mi padre académico. Padre como tal, tan paciente para explicarme más de 2 veces lo mismo, tolerante con mi puntualidad (o ausencia de ella), atento en conseguir lo necesario para que mi camino no se viera truncado, excelente guía y compañero en tan multidisciplinario trabajo, sin olvidar que siempre confió que con mi "*simpatía sin igual*" llegaría lejos. A usted, claro ejemplo de que las necesidades básicas son frivolidades si se trata de un genetista de poblaciones; a usted quien siempre prefirió la madrugada y el buen heavy metal como compañía; a usted le agradezco todo el tiempo y esfuerzo invertido en mi formación como Maestro en Ciencias. Después de todo, me hizo sentir que soy más que un número para su beca al desempeño. Gracias Luís.

Gracias también a mis sinodales. Al Dr. Conal True, por brindarme de su tiempo e instruirme con tan delicado tema que decidimos trabajar, ánimo Doctor. A la Dra. Alicia Abadía le agradezco por intentar formar vínculos con otros laboratorios y por mostrar que en la ciencia no solo hay estrés.

El más profundo de mis agradecimientos va para mi familia. A mi Madre y a Raúl, por su comprensión en esos días donde la presión, el trabajo y la mala organización con mis tiempos, dejaron salir al Mr. Hyde que llevo dentro. Madre, que con su apoyo incondicional, siempre ahí con un consejo, apapacho y jalón de oreja (según sea el caso), me impulsa a seguir adelante, a crecer cada día más; gracias totales. Ya verá que algún día alcanzaré ese 1.64m de altura. Padre y René, que pese a la distancia, siempre estuvieron al pendiente de mi trabajo, gracias por los consejos y las frases motivadoras.

A la compañía dentro del laboratorio y de los salones, a ustedes maestros y compañeros de generación, gracias. Fueron buenos momentos de trabajo, estrés y algunos logros. Especialmente a mis compañeras Ana y Diana por todo su apoyo; me hicieron ver que la amistad femenina es necesaria y así como se volvieron parte necesaria de mi vida. Sé que llegarán muy lejos en su formación académica y que las reuniones de margaritas perfectas, con tan recatados temas de conversación, no acabarán.

Gracias a la universidad, por los retos que me ofreció y que pusieron a prueba mi serenidad y paciencia. A la facultad por dejarme hacer uso de las instalaciones y de algunos maestros (que considero que algunos de ellos deberían estar en el inventario).

Agradezco a PGR, PROFEPA y al NFWS por acceder, algunas de ellas de no muy buena gana, a apoyar a la UABC. Sin el acceso a los decomisos para la toma de muestras y las facilidades para hacer uso de sus instalaciones, este trabajo no hubiera sido posible. Particularmente extendo mi más sincero agradecimiento al A.M.P. Julio César Arias González (PGR), al Biól. Oswaldo Arturo Santillán Langarica y a la Dra. Mary Burnham-Curtis (NFWS).

Desafortunadamente, debo agradecer también a los pescadores ilegales. Al final, la información generada en este trabajo fue, en gran parte, fruto de la inconsciencia y ambición de algunos. Sin embargo, reconozco también que la participación de otros tantos pescadores en esta actividad, es reflejo y consecuencia de la precaria situación económica que impera en sus comunidades.

Al CONACyT por otorgarme la beca No.583253, gracias a la cual pude financiar mis estudios de maestría.

Y así, los agradecimientos se extienden más allá de la institución, mi hogar e inclusive el municipio. A esas personas que estuvieron a lo largo de este camino, a mi familia de capoeira y jiu jitsu, amistades lejanas, a la amante de los m&m y a todos aquellos que, por mí brevedad y la proximidad el punto final, no los coloco en estas páginas pero sí los ubico en el ventrículo izquierdo de mi corazón; fueron ustedes quienes se encargaron de que fluyera el oxígeno y la diversión durante todo este tiempo.

Gracias de nuevo a todos.

## Resumen

Aunque la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) fue alguna vez muy abundante, la combinación de la sobrepesca y el deterioro de su hábitat, aparentemente redujeron su niveles poblacionales de forma drástica. Como respuesta, el gobierno mexicano estableció una veda permanente mediados de la década de los 70's y actualmente se encuentra protegida por la NOM-059 y enlistada como especie en peligro de extinción (CITES I). Sin embargo, el elevado valor comercial de su vejiga natatoria en el mercado negro oriental, fomenta una intensa pesca ilegal que representa un impacto de magnitud desconocida sobre la población; al menos 1,938 totoabas fueron extraídas entre 2010 y 2016. El programa de reproducción en cautiverio, que inició en UABC hace más de 20 años, representa el esfuerzo de conservación más tangible para esta especie y contempla el desarrollo de la acuicultura y un programa experimental de suplementación de la población silvestre a través de la liberación de alevines. Para garantizar la trazabilidad genética individual y evaluar la viabilidad de la progenie, se incorporaron marcadores genéticos (haplotipos mitocondriales y 24 loci microsatélites). A partir del análisis morfométrico y una prueba genética de asignación de paternidad efectuada en 969 vejigas de totoaba, decomisadas entre 2013 y 2016 por autoridades ambientales de Estados Unidos (NFWS) y de México (PROFEPA y PGR), se logró la identificación de dos individuos provenientes de las cohortes generacionales 2001 y 2007 producidas en cautiverio. Este hallazgo demuestra no solo que los alevines liberados pueden alcanzar la edad adulta en vida libre, sino que permitió obtener, por primera vez, una aproximación a la abundancia absoluta del recurso. El promedio de las estimaciones realizadas con el modelo de Chapman resultó en 89,000 individuos de un año de edad. Con base en este dato, las proyecciones a las edades de entre 1 y 30 años, sugieren una población de aproximadamente 850,000 individuos, de los que 40,000 corresponden a individuos adultos. Este número de individuos sería suficiente para mantener la estabilidad demográfica de la población, aún si se consideran los niveles actuales de captura ilegal. Por otro lado, mediante un análisis de inferencia demográfica Bayesiano, se estimó que el tamaño efectivo actual de la población de totoaba es mayor a los 1000 individuos y que no existe evidencia contundente de que una reducción drástica en sus niveles de abundancia. En conjunto, estos resultados plantean un escenario demográfico estable y aportan evidencia adicional que sustenta que la población de totoaba no se encuentra en peligro de extinción y que posee un tamaño efectivo mayor al que tamaño mínimo viable para garantizar su conservación.

## Abstract

Although the totoaba (*Totoaba macdonaldi*) was once very abundant, the combination of overfishing and deterioration of its habitat apparently reduced its population to critical levels. In response, the Mexican government established a permanent closure in the mid-1970s and is currently protected by NOM-059 and listed as an endangered species (CITES I). However, the high commercial value of its swim bladder in the eastern black market encourages intense illegal fishing that represents an impact of unknown magnitude on the population; at least 1,938 totoabas were extracted between 2010 and 2016. The captive-breeding program, which started at UABC more than 20 years ago, represents the most tangible conservation effort for this species and contemplates the development of aquaculture and an experimental program of supplementation of the wild population through the release of fingerlings. To ensure individual genetic traceability and assess the viability of the progeny, genetic markers (mitochondrial haplotypes and 24 microsatellite loci) were incorporated. From the morphometric analysis and a genetic test of paternity assignment carried out in 969 totoaba bladders, confiscated between 2013 and 2016 by environmental authorities of the United States (NFWS) and Mexico (PROFEPA and PGR), the identification of two individuals was achieved from the 2001 and 2007 generational cohorts produced in captivity. This finding demonstrates not only that the released fry can reach adulthood in free life, but that it allowed obtaining, for the first time, an approximation to the absolute abundance of the resource. The average of the estimates made with the Chapman model resulted in 89,000 one-year-old individuals. Based on this data, the projections at ages between 1 and 30 years suggest a population of approximately 850,000 individuals, of which 40,000 correspond to adult individuals. This number of individuals would be sufficient to maintain the demographic stability of the population, even if the current levels of illegal capture are considered. On the other hand, through an analysis of Bayesian demographic inference, it was estimated that the current effective size of the totoaba population is greater than 1000 individuals and that there is no conclusive evidence that a drastic reduction in their abundance levels. Taken together, these results provide a stable demographic scenario and provide additional evidence to support that the totoaba population is not in danger of extinction and that it has an effective size greater than the minimum viable size to ensure its conservation.

# Introducción

La extinción o la desaparición de las especies es un proceso natural que, en función del potencial adaptativo y de la estabilidad del hábitat de cada una de ellas, puede ocurrir de forma abrupta o muy lentamente. Ya que el potencial adaptativo está directamente relacionado con el tamaño de una población, el impacto antropogénico asociado con la explotación de los recursos naturales y la alteración del hábitat incrementan la velocidad de este proceso (Leakey, 1998; Castellanos, 2006).

Dentro de cada país existen leyes que buscan regular el uso y el manejo de las especies para que este se realice de forma sustentable, garantizando así su conservación. En México existe la Norma Oficial Mexicana 059-SEMARNAT-2010, que se encarga de identificar y clasificar aquellas especies latentes ante algún tipo de riesgo que comprometa la existencia de estas. Son diversos los criterios que aborda esta norma para realizar dicha clasificación, los cuales incluyen desde el área de distribución, el estado del hábitat, la vulnerabilidad, las fluctuaciones en la abundancia poblacional en determinado marco temporal, hasta el impacto de la actividad humana.

Se puede declarar el estado de una población en dos categorías: a) bajo amenaza o b) en peligro de extinción (Denisse, 2010). El criterio de la clasificación nace de la evidencia científica con la que se cuenta, por ello la importancia de realizar estudios poblacionales dirigidos a determinar el riesgo real en el que se encuentra una especie y establecer así las políticas y acciones de conservación más adecuadas.

Existen diversos tratados, programas y acuerdos internacionales que se encargan de la protección y el resguardo de la biodiversidad que nos rodea y de la cual hacemos uso. Entre ellos encontramos al CITES (Convention on International Trade in Endangered Species), IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) y la ESA (*Endangered Species Act*), las cuales tienen como finalidad el amparar y/o desarrollar un uso sustentable de los recursos (Guevara, 1990).

Las principales actividades humanas que pueden causar la erradicación de alguna o varias especies son, entre otras, las actividades agrícolas, ganaderas, pesca intensiva, deforestación, la construcción de carreteras y represas (Miller, 1961; Flanagan & Hendrickson, 1976; Castellanos, 2006; Díaz García & Ojeda, 2014). Sin embargo, son aquellas actividades que se llevan a cabo de forma ilegal las que ocasionan un impacto más significativo y en ocasiones irreversible. El impacto de esta actividad ilícita sobre las poblaciones generalmente está asociado con la extracción de individuos, con la consecuente reducción en el reclutamiento y la alteración de la tendencia demográfica, así como con el deterioro del hábitat ocasionado por cambios en el uso del suelo o la contaminación (SEMARNAT,2013). Todas estas acciones provocan alteraciones en la capacidad de carga del entorno, teniendo como consecuencia la reducción de la abundancia de las poblaciones y por ende de su potencial adaptativo.

Resulta obvio que aquellas especies con historias de vida con etapas de mayor riesgo, tales como eventos reproductivos gregarios y muy localizados en tiempo y espacio se verán más comprometidas (de Mitcheson, 2016).

La falta del marco legal en el cuidado de la biodiversidad no sólo afecta al medio ambiente, sino también al desarrollo económico y social de la población humana que depende de las plantas y animales (o productos derivados de ellos) para su alimentación y la fabricación de materia prima para la industria textil y farmacéutica.

El Golfo de California es uno de los sitios con mayor diversidad biológica a nivel mundial y sustenta parte importante de la actividad pesquera en México (Rodríguez-Quiroz et al. 2010, Brusca et al. 2017, Santamaría del Angel et al. 2017). Presenta características únicas gracias a su confinamiento geográfico y a la entrada de agua dulce del Río Colorado. La región del Alto Golfo de California se destaca por brindar condiciones óptimas para la reproducción, crianza y desarrollo de etapas tempranas de gran cantidad de organismos (Blanco 1993) y cuenta con un importante número de especies de interés comercial a nivel internacional, tales como la sardina y el camarón, así como con la presencia de varias especies endémicas (Cisneros-Mata et al. 1995).

Entre los endemismos más conocidos destacan la vaquita marina (*Phocoena sinus*) y la totoaba (*Totoaba macdonaldi*), ambas catalogadas como especies en peligro de extinción (Flanagan 1976, Barrera-Guevara 1990, Pedrín-Osuna 2001, Cisneros-Mata et al. 1997, Rojas et al. 2006, Díaz de León 2013).

Estas dos especies se encuentran fuertemente ligadas, ya que comparten área de reproducción y distribución (Blanco 1993). A su vez, se le atribuye a la pesquería

ilegal de totoaba la reducción drástica poblacional de la vaquita, como consecuencia de que los individuos suelen enredarse en las redes de enmalle que usan para extracción de totoabas, lo que ha ocasionado que las autoridades paren la pesca de la zona, dejando de lado el uso y manejo sustentable de otros recursos de la zona y sin trabajo a los pescadores locales. Sin embargo, se tiene reportado que la población de *Phocoena sinus* ya presentaba una reducción considerable desde antes de que la pesquería de totoaba se volviera popular y mucho antes de que su vejiga natatoria alcanzara precios de hasta 60 mil dólares en el mercado negro asiático (Sadovy, 2001; Rojas et al, 2006). De cualquier forma, en la actualidad los esfuerzos de conservación de estas dos especies es un punto focal tanto en la sociedad científica como en la sociedad en general.

Desde 1996, como parte de los esfuerzos de conservación de la totoaba, la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) logró reproducirla en cautiverio, lo que paulatinamente llevó a cerrar su ciclo biológico como parte de la biotecnología para el desarrollo de su cultivo en 2010. Esto permitió realizar de forma esporádica liberaciones experimentales de alevines hacia la población silvestre, como parte de los compromisos de conservación establecidos por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) para las unidades de manejo ambiental (UMAs). El éxito del programa se replicó, años después, en el Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora y en la empresa privada Earth Ocean Farms, LCC, en Baja California Sur. En conjunto, durante los poco más de 20 años de iniciado el programa de reproducción en cautiverio de totoaba (1994-2016), estas tres unidades de manejo ambiental (UMAs) han liberado alrededor de 260,000 totoabas jóvenes al Golfo de

California (SEMARNAT 2016). Al menos una tercera parte de los alevines liberados, específicamente aquellos liberados por la UABC, fueron marcados física o genéticamente (True 2012, Enríquez et al. 2014, Enríquez et al. 2015).

La fuerte demanda y el alto valor económico que alcanza la vejiga natatoria de la especie en el mercado negro asiático, ha fomentado que la captura y el tráfico ilegal se intensificarán durante los últimos 5 años. Tan solo entre 2013 y 2017, las autoridades relacionadas con la protección ambiental de los gobiernos de México (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, Procuraduría General de la República, Secretaría de Marina, Secretaría de la Defensa Nacional, Policía Federal, así como las Policías Municipales correspondientes) y de los Estados Unidos de Norteamérica (National Fish and Wild Life Service y National Oceanographic and Atmospheric Administration) han decomisado más de 2,500 ejemplares o productos derivados de especímenes de totoaba; principalmente vejigas natatorias (buches) frescos o secos.

Pese a que se considera en extinción y a que se atribuye a la sobreexplotación la reducción drástica de la población de totoaba, la intensiva captura ilegal de totoabas, junto con un sólido conjunto de evidencias científicas, apuntan a que el recurso muestra signos de recuperación y a que su salud genética no se encuentra comprometida (Enríquez et al. 2008, Díaz de León 2013, Enríquez 2014, Valenzuela- Quiñones 2014, Enríquez et al. 2015, Valenzuela- Quiñonez 2015, 2016). Esto sin duda representa un escenario alentador sobre el estado actual de conservación de la totoaba y del potencial de desarrollo de la acuicultura y de la pesca deportiva bajo esquemas sustentables en un corto y mediano plazo, respectivamente. No obstante,

luego de más de 40 años de veda permanente del recurso, no se cuenta con una evaluación reciente del tamaño absoluto de la población de totoaba y no se cuenta con una MER para la especie.

El tamaño de una población es un parámetro crítico para poder evaluar el nivel de recuperación, el estado actual de conservación y, en el mejor de los casos, establecer estrategias para el uso sustentable del recurso en cuestión (Liukart et al. 2010). La relevancia ecológica de este parámetro promovió el desarrollo de una gran cantidad de métodos para estimar el tamaño censal ( $N_c$ ) de una población (Williams et al. 2002; Amstrup et al. 2005), pero bajo el contexto actual ecológico-evolutiva en el área de la conservación, los métodos para estimar el tamaño efectivo ( $N_e$ ) de la población a través del uso de marcadores moleculares han proliferado aún más. El desarrollo de la biología molecular y sus aplicaciones en la genética de la conservación ha avanzado tan rápidamente, que hoy en día están disponibles una gran cantidad de marcadores genéticos y herramientas analíticas que permiten estimar no solo el tamaño censal, sino el tamaño efectivo contemporáneo y aproximaciones del tamaño histórico ancestral o histórico a partir del mismo juego de datos moleculares (Liukart et al. 2010, Smith et al. 1999; Pearse et al. 2001; Mowat y Paetkau 2002, Garrigue et al. 2004, Bellemain et al. 2005, ; Lukacs y Burnham 2005, Madon et al. 2011).

El presente estudio representa el primer esfuerzo por integrar los datos morfométricos (relación talla-edad) y datos moleculares (haplotipos mitocondriales y genotipos multilocus) obtenidos a partir de los decomisos de ejemplares, partes o derivados de totoaba (Enríquez et al. 2014, 2015) con el objeto de estimar el tamaño

censal y el tamaño efectivo de la población. Lo anterior con base en el marcaje genético de individuos liberados experimentalmente y el uso de modelos de captura-recaptura. Paralelamente, se estimará el tamaño efectivo poblacional con el conjunto de datos moleculares para obtener una aproximación de la razón  $N_c/N_e$  como medida relativa del riesgo que pudieran representar los factores demográficos o genéticos para la persistencia de la población, al momento de la toma de decisiones de manejo y conservación (Frankham 1995, Kalinowski y Waples 2002, Palstra y Ruzzante 2008, Palasrtra y Fraser 2012).

## **Materiales y Métodos**

La base del presente trabajo la representa la colección de muestras de ADN y la base de datos genéticos de la UBP-UABC, que cuenta con los haplotipos mitocondriales (Enríquez et al. 2015) y el genotipo multilocus con 24 marcadores microsatélites (Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015, Cerda et al. 2016) de 52 individuos reproductores de origen silvestre y 60 de una primera generación nacida en cautiverio.

Asimismo, dicha base contiene los haplotipos mitocondriales de más de 1,550 muestras de totoaba decomisadas por la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), la Procuraduría General de la República (PGR) y el National Fish and Wildlife Service (NFWS) de los Estados Unidos de Norteamérica, entre 2013

y 2016 (Enríquez et al. 2015). Para 969 de las piezas decomisadas se cuenta además con información sobre la longitud del buche, fresco o seco (Tabla 1).

**Tabla 1.** Relación de los decomisos de totoaba de los que se obtuvieron datos morfométricos y muestras biológicas para la extracción de ADN.

<b>Institución</b>	<b>Fecha</b>	<b>Vejigas decomisadas</b>	<b>Estado</b>
NFWS (EUA)	Febrero-Marzo 2013	255	Secas
NFWS (EUA)	Febrero-Abril 2013	271	Frescas
PGR	Mayo 2013	72	Secas
PGR	Mayo 2013	1	Fresca
PROFEPA	2014	2	Frescas
PROFEPA	2014	2	Secas
PGR	Febrero-Mayo 2016	78	Frescas
PROFEPA	Marzo 2016	121	Frescas
PGR	Diciembre 2016	163	Secas
PGR	Diciembre 2016	4	Frescas

La legal procedencia de todas las muestras empleadas en el presente estudio se encuentra avalada por los permisos emitidos por la Dirección General de Vida Silvestre y los oficios de cadena de custodia correspondientes emitidos por la PGR (**PFPA/9.3/2c/2201/2013, SGPA/DGVS/07301/14, EXH/PGR/BC/ENS/15/14/M-IV, AP119/UEIDAPLE/18/2013**).

### **Datos morfométricos**

Utilizando los datos de la longitud total, la longitud estándar y el año de recolecta de cada uno de las 969 vejigas natatorias decomisadas entre 2013 y 2016,

se calculó la edad aproximada mediante la ecuación de Von Bertalanffy (Sparre y Venema 1995) y los parámetros de crecimiento reportados para la especie (Román-Rodríguez y Hamman 1997, De Anda et al. 2013, Enríquez et al. 2015). De esta forma se agruparon las muestras por cohortes generacionales para los subsecuentes análisis genéticos (Enríquez y True, 2017, ver Anexo I. Es decir que, por ejemplo, una muestra decomisada en 2013 para la que se estimó una edad de 10 años, fue asignada al cohorte de 2003.

### **Obtención del ADN**

Con la finalidad de optimizar el tiempo y el costo del procesamiento en el laboratorio, se seleccionaron de la colección de ADN de totoaba de la UBP-UABC exclusivamente aquellas muestras para las que se contara con el dato de la cohorte generacional correspondiente y que presentaran además alguno de los haplotipos mitocondriales registrados en las hembras reproductoras en cautiverio. Tomando en cuenta que la herencia del genoma mitocondrial es predominantemente materna en los eucariotas (Breton y Stewart 2015), así como la ausencia de evidencia de herencia no materna en más de 2,500 crías de totoaba provenientes de 20 eventos reproductivos en cautiverio (Enríquez, datos no publicados), solo aquellas muestras con haplotipos mitocondriales presentes en las hembras reproductoras de la UBP fueron consideradas para las subsecuentes pruebas de asignación de paternidad (318 de las 1,040 muestras).

Cuando fue necesario, se extrajo nuevamente ADN de algunas muestras de tejido usando un protocolo universal con sales y proteinasa K (Aljanabi y Martinez 1997). La

calidad y el rendimiento de la extracción de ADN se evaluaron mediante electroforesis en geles de agarosa con bromuro de etidio y espectrofotometría (NanoDrop 1000).

### **Amplificación del conjunto de microsatélites para la asignación parental**

Las 251 muestras seleccionadas, correspondientes a haplotipos mitocondriales presentes en el grupo de hembras reproductoras de la UBP-UABC, se genotipificaron con un subconjunto de marcadores microsatélites que incluyó los 8 loci más informativos del conjunto de 24 microsatélites estandarizados y optimizados para totoaba (Díaz de León 2010, Calderón et al. 2013, Valenzuela-Quíñonez et al 2014, Enriquez et al. 2015, Cerda 2016, Neyra 2016). Con dicho panel de marcadores se han calculado probabilidades de identidad extremadamente bajas ( $1 \times 10^{-28}$ ), lo que permite garantizar la identificación a nivel individual y una asignación confiable de la paternidad (ver Anexo II).

Siguiendo los lineamientos de control de calidad sugeridos por Morin y colaboradores (2010) y Tiedemann y colaboradores (2012), la genotipificación se llevó a cabo con el el programa GeneMarker V2.4.0 (SoftGenetics LCC). Las lecturas alélicas fueron revisadas tanto en el programa MSTools V3.1.1 (Park 2001) y el programa MicroChecker V2.2 (Oosterhout et al. 2004) para evaluar errores de genotipificación y la presencia de alelos nulos.

La asignación parental se llevó a cabo mediante el programa Gimlet V1.3.3 (Valiére 2002), el cual compara el genotipo de cada individuo genotipificado con el genotipo de las parejas de progenitores putativas (macho-hembra). De esta forma,

aquellos individuos que compartieron 50% de alelos con cada uno de los individuos de una pareja de reproductores en cautiverio, fueron asignados como progenie de estos.

### **Marcaje-captura-recaptura**

Todos aquellos individuos producidos en cautiverio, se consideraron genéticamente marcados al contar con los genotipos de los parentales. El registro del número de alevines de totoaba liberados en el Alto Golfo de California por la UBP-UABC, entre 1996 y 2015, se detalla en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Liberaciones de totoaba realizadas por la Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Universidad Autónoma de Baja California entre 1997 y 2015.

<b>Año</b>	<b>Alevines de totoaba liberados</b>
1997	200
1999	600
2000	1,200
2001	3,300
2002	1,600
2007	2,000
2012	2,070
2013	12,000
2014	20,000
2015	40,000

Ya que los individuos de cada evento de liberación corresponden a la producción en cautiverio de una sola temporada, cada grupo liberado pertenece a la misma cohorte de individuos marcados genéticamente. Por lo tanto, aquellas muestras

obtenidas de los decomisos y en las que se pudiera determinar que la paternidad correspondiese a una pareja de reproductores de la UBP, se consideraron recapturas genéticas (Enríquez et al. 2015, Cerda et al. 2016). En otras palabras, cuando en una muestra la prueba de asignación de paternidad fue positiva para ambos progenitores de un determinado cohorte generacional, el número de alevines liberados del cohorte representó el periodo de primera captura y marcaje; el número de ejemplares decomisados de ese cohorte representó el segundo periodo de captura; mientras que el número de individuos asignados como progenie de un par de progenitores representó las recapturas.

Debido a que existen ciertas limitaciones asociadas al método de marcaje-captura-recaptura, las cuales que afectan la homogeneidad en la probabilidad de recaptura, se decidió probar distintos estimadores de captura recaptura (Sabre 1982, Smith y Smith 2001, Baddi et al. 2012). Con el marcaje genético, la potencial pérdida de la marca con el tiempo puede descartarse como factor que afecte la homogeneidad en la probabilidad de recaptura (Garrigue et al. 2004). Por otro lado, al tratarse de una especie endémica y en la que se ha demostrado que no existen subunidades poblacionales, la emigración y la inmigración no son relevantes y sustentan el uso de un modelo para poblaciones cerradas. Sin embargo, se tiene un escaso conocimiento sobre la segregación o mortalidad diferencial por grupos de edad y sexo en la totoaba.

Usando estos modelos, se estimó el número de individuos correspondientes al al cohorte de edad liberado, es decir la abundancia del grupo de un año de edad. Aunque es claramente cuestionable, en este trabajo se asumió que la mortalidad de

los individuos producidos en cautiverio y liberados, es similar a la de los de la población silvestre.

### **Estimación absoluta: Simulación de dinámica poblacional**

Tomando como línea de base la estimación de abundancia obtenida para cohorte de un año de edad, se proyectó la tendencia demográfica de la población silvestre de totoaba en función de los índices de mortalidad total, por grupos de edad, reportados para esta y otras especies de sicánidos con historias de vida y metabolismos similares (Pauly 1980, Holt 1981, Green 1985, Cisneros-Mata et al. 1995, Ross y Steven 1995, Cisneros-Mata 1997, Porsh, 2000, Pedrín-Osuna 2001, Lercari y Chávez 2007, Stewart y Scharf 2008, True 2012, De Anda-Montañez et al. 2013; Valenzuela-Quíñonez 2014, 2015). De esta forma, se realizó una simulación demográfica dando como resultado la extrapolación del tamaño censal. Esto fue apoyado con los .datos de pesquería no reportados.

Utilizando el software Crystall Ball v11.0 (ORACLE Technology), se llevaron a cabo simulaciones de Monte Carlo para obtener una aproximación del tamaño total de la población silvestre de totoaba, así como sus tendencias demográficas. Para dichas simulaciones se consideraron las distribuciones de frecuencias teóricas para la proporción de sexos, así como para las tasas de mortalidad total y fecundidad promedio por grupo de edad. Las distribuciones de todos estos parámetros se construyeron usando como base los valores reportados para varias especies de

sciánidos, así como los que se han obtenido específicamente para totoaba, tanto en cautiverio como en vida libre (Anexo III). Debido a que una variable puede ser modelada a través de una distribución log-normal cuando es el resultado multiplicativo de muchos pequeños factores independientes, se decidió usar dicha distribución para la mortalidad y las estimaciones de abundancia resultantes..

Los intervalos de confianza al 95% se estimaron con base en 1,000,000 de simulaciones.

### **Estimación del tamaño efectivo de la población: Inferencia demográfica**

Utilizando un método genético de máxima verosimilitud Bayesiana, acoplado con simulaciones de Monte Carlo, se usaron las frecuencias de los alelos microsatélites para inferir los cambios demográficos que la población de totoaba pudo haber experimentado. Con base en los genotipos multilocus de las 251 muestras decomisadas que fueron genotipificadas en el presente estudio, se realizó un análisis de demografía histórica en el programa MsVar V1.3 (Beaumont 1999). Se estimó tanto el tamaño efectivo histórico como el contemporáneo, así como sus intervalos de credibilidad, con base en tres escenarios de cambio demográfico. La información *a priori* con respecto a las tasas de mutación y los valores de inicio para los *loci* fue la misma descrita previamente para la especie por Valenzuela-Quiñonez y colaboradores (2014). Los logaritmos de valores del tamaño promedio ( $M$ ) y la desviación estándar ( $V$ ) para la población actual ( $N_0$ ) y la población ancestral ( $N_1$ ) fueron distintos en cada escenario. El primer escenario correspondió a un evento de cambio de expansión ( $MV_{N_0}=2.7, 1; MV_{N_1}=3.7, 1.5$ ), segundo escenario correspondiente al equilibrio ( $MV_{N_0}=3.7, 1.5; MV_{N_1}=3.7, 1.5$ ) y el tercer escenario

hacia una reducción ( $MV_{N0}=3.7, 1.5$ ;  $MV_{N1}=2.7, 1$ ). La tasa de mutación y el tiempo transcurrido desde el cambio ( $MV_t= 5, 2$ ) se mantuvieron constantes en todos los escenarios. Cada cadena se corrió por  $50 \times 10^6$  pasos, registrando la estimación de los parámetros cada 5000 líneas.

Los resultados de las corridas se analizaron mediante la rutina descrita por Plummet y colaboradores (2006) en el Coda Package 0.14-4, con base en un diagnóstico Gelman-Rubin (1992) para evaluar la convergencia de las cadenas (Girod et al. 2011). Finalmente, se contrastaron los escenarios a través del factor de Bayes (Beaumont 1999) para evaluar el soporte estadístico para los escenarios demográficos probados.

Es importante señalar que, para el presente estudio se decidió usar un tiempo generacional de 14 años, a diferencia de estudios previos que han empleado 7 años (Valenzuela-Quiñones et al. 2014). Esto porque el tiempo generacional corresponde a la edad promedio de las hembras reproductivamente activas y no a la edad de primera madurez sexual (Coale 1972, Charlesworth 1994).

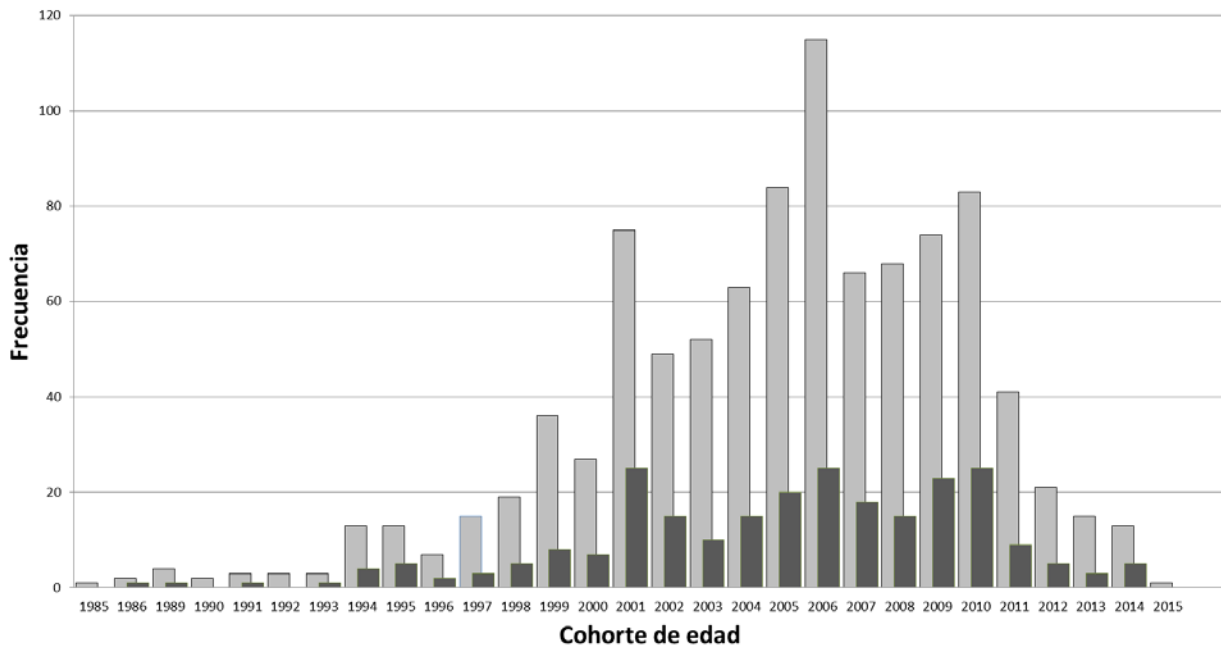
# Resultados

## Distribución de frecuencias de edades

La distribución de frecuencia de la edad de las 969 muestras incluyeron en los análisis del presente estudio, refleja una mejor representación de las cohortes de edades intermedias (4-14 años). La baja frecuencia de los cohortes de mayor, así como de las más jóvenes, seguramente está asociado con la mortalidad natural de las primeras y con el sesgo, producto de la selectividad del arte de pesca que emplean los pescadores ilegales, a quienes no les interesan las tallas pequeñas. Cabe destacar que la distribución de cohortes de edades de la población, al menos para las edades intermedias, sugiere una población relativamente estable al no presentar huecos (Fig. 1).

De los 152 linajes mitocondriales de totoaba que se habían reportado hasta 2015 (Enríquez et al. 2015), solo 52 de ellos se encuentran representados en los reproductores en cautiverio y únicamente 38 de estos corresponden a las hembras.

Del total de piezas decomisadas (969), aquellas que representaron especímenes con haplotipos mitocondriales presentes en las hembras reproductoras en cautiverio (251) y que, por lo tanto, podrían corresponder a progenie nacida en cautiverio, mostraron también una distribución de frecuencias continua y muy similar a la de la muestra global (Fig.1). Esto sugiere que los linajes mitocondriales presentes en los reproductores de la UBP-UABC pueden considerarse como una muestra representativa de la distribución de frecuencias de estos linajes en la población silvestre.



**Figura 1.** Distribución de cohortes de edad de las muestras decomisadas entre 2013 y 2016 utilizadas en el presente estudio (gris claro), indicando aquellas con linajes mitocondriales presentes en las hembras mantenidas en cautiverio en la UBP-UABC.

### **Amplificación del subconjunto de microsatélites y pruebas de paternidad**

Debido a la calidad y la cantidad del ADN en algunas de las muestras, no fue posible amplificar el conjunto de los 24 microsatélites en todas ellas. Sin embargo, la diversidad genética observada en la muestra resultó muy similar a la reportada anteriormente para la especie (Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2014, Valenzuela-Quñones et al. 2014, Enríquez et al. 2015, Anexo II). En 80 de las 251 muestras no fue posible obtener productos de amplificación o lecturas de alelos confiables para los microsatélites Sc006, Sc014, Sc044, Sc055, Sc056, Sc074, Sc418, Sc423, Sc443, Sc507, Sc554, Sc826 y Sc973. A pesar de este inconveniente, los 11 loci

microsatélites restantes fueron suficientes para excluir la paternidad de 245 de las 251 muestras analizadas.

Con el objeto de reducir los costos de los análisis, pero sin perder resolución en las pruebas de asignación parental, todas aquellas muestras en las que se excluyó la paternidad con el subconjunto de 11 microsatélites fueron descartadas para subsecuentes amplificaciones.

En aquellas muestras en las que no se pudo excluir la paternidad y que no contaban con el genotipo multilocus completo, se repitió la extracción de ADN para amplificar los 13 microsatélites restantes y confirmar así la asignación parental.

Se identificaron dos muestras que además de presentar haplotipos mitocondriales representados en el grupo de hembras reproductoras de la UBP-UABC, compartieron 50% de los alelos para los 24 loci microsatélites con alguna pareja (macho-hembra) de reproductores en cautiverio.

Ambas muestras correspondieron a las muestras recolectadas durante 2014; una perteneciente al cohorte del año 2001 (13 años de edad) y la segunda correspondiente al año 2007 (7 años de edad). La revisión de los registros de los progenitores activos para cada ciclo de producción y liberación de alevines la UBP, confirmó que los padres putativos estuvieron reproductivamente activos en esos años y que se realizaron liberaciones de alevines a la población silvestre. En la Figura 2 se ejemplifica la forma en la que el programa Gimlet realiza la asignación parental de un grupo de muestras con respecto a los genotipos y el sexo de los reproductores, así como de los años o ciclos reproductivos en los que han participado (Fig. 2).

```

PaternidadTotoaba (2P).txt: Bloc de notas
Archivo Edición Formato Ver Ayuda
Gimlet Software v1.3.3 by N.VALIERE, 2003
Date: 09-04-2016 07:38:22
First reproduction (M/F/U) at= // year(s)
Maximum number of incompatibilities= 0
Results for the determination of the two parents
Potential pairs of parents (Mother/Father when sex is available)
TA0322001F = parent
TA0342001F = parent
TA0362001M = parent
TA0252001M = parent
TA0242001M = parent
TA0462007F = parent
TA0472007F = parent
TA0482007F = parent
TA0492007M = parent
TA0502007M = parent
TA0512007M = parent
TA0522007M = parent
TA0532007F = parent
TA0542007F = parent
TA0552007M = parent
TA0562007F = parent
FWS000358U orphan ? :(
FWS000455F TA0322001F/TA0252001M (*)
FWS000214M orphan ? :(
FWS000056F orphan ? :(
FWS000015F orphan ? :(
FWS000089M orphan ? :(
PGR000115U orphan ? :(
PGR000165F orphan ? :(
PGR000188M orphan ? :(
PGR000123U TA0472007F/TA0552007M (*)
PGR000174F orphan ? :(
PGR000003M orphan ? :(
PGR000045F orphan ? :(
PGR000289U orphan ? :(
PGR000547M orphan ? :(

```

Figura 2. Ejemplo del archivo de salida generado por el programa Gimlet en el que se indican los genotipos de la muestra de estudio que fueron asignados como progenie de los reproductores de la UBP-UABC. Los genotipos de los reproductores identificados como padres ("parent") son contrastados con los de la progenie putativa, por lo que las muestras que no comparten al menos 50% de los alelos con el genotipo de alguno de los posibles parentales son identificadas como huérfanos ("orphan"). Cuando existe la asignación a uno o más parentales, estos se indican al lado de la muestra.

Es importante señalar que, aunque en años recientes se ha liberado una cantidad mucho mayor de alevines (Tabla 2), el tamaño de muestra proveniente de los decomisos para esas cohortes es muy pequeña. La mayor parte de los decomisos proviene de animales de tallas medias o grandes (85-150 cm), que son las tallas que dominan la captura ilegal con redes, lo que reduce la probabilidad de encontrar recapturas de tallas menores.

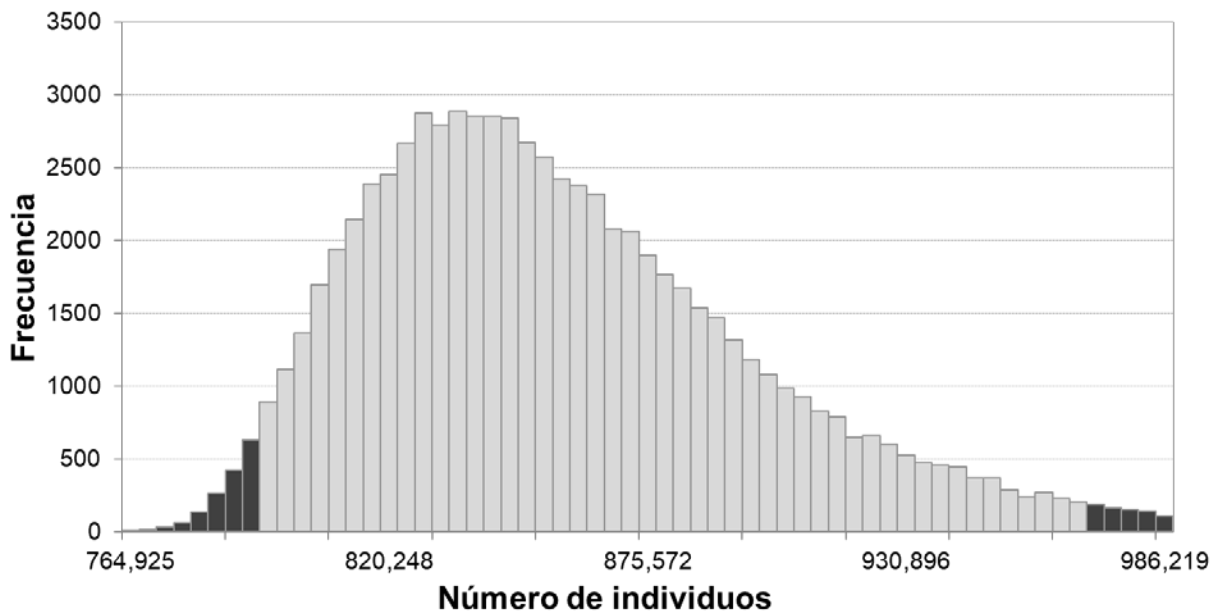
### **Estimación absoluta del tamaño poblacional: Tamaño censal**

La estimación del número de individuos de un año de edad en la población, basada en método de marcaje-captura-recaptura, varió entre 3,200 y 247,500 individuos. Sin embargo, al ser el estimador de Petersen el más sesgado y no permitir la estimación cuando no se tienen recapturas entre dos periodos, se consideraron más confiables los resultados de los estimadores de Chapman y Bailey (Tabla 3). Aunque estos dos últimos estimadores arrojaron valores de abundancia muy similares, en lo sucesivo se emplearon solo los datos obtenidos a través del modelo de Chapman. Esto por el hecho de que el modelo es más adecuado cuando se tiene un número reducido de recapturas (Pollock 1991, Chao y Huggins 2010).

**Tabla 3.** Estimación de abundancia por el método de marcaje-recaptura a través de varios modelos. Los periodos sombreados son los que presentaron una recaptura. SD= Desviación estándar; C.V= Coeficiente de variación. La estimación corresponde al cohorte de un año de edad.

Cohorte (año)	Liberaciones <sub>UBP-UABC</sub> (n <sub>0</sub> )	Totales (n <sub>1</sub> )	H <sub>UBP</sub> (mtDNA)	Recapturas genéticas (m <sub>1</sub> )	Petersen			Chapman			Bailey		
					N	S.D	C.V.	N	S.D	C.V.	N	S.D	C.V.
1985		1	0										
1986		2	1										
1989		4	1										
1990		2	0										
1991		3	1										
1992		3	0										
1993		3	1										
1994		13	4										
1995		13	5										
1996		7	2										
1997	200	15	3	0	-	-	-	3,215	2,196	0.68	3,200	2,191	0.68
1998		19	5										
1999	600	36	8	0	-	-	-	22,236	15,497	0.70	22,200	15,484	0.70
2000	1,200	27	7	0	-	-	-	33,627	23,340	0.69	33,600	23,331	0.69
2001	3,300	75	25	1	247,500	168,368	0.68	125,437	71,441	0.57	125,400	71,441	0.57
2002	1,600	49	15	0	-	-	-	80,049	56,017	0.70	80,000	56,000	0.70
2003		52	10										
2004		63	15										
2005		84	20										
2006		115	25										
2007	2,000	66	18	1	132,000	90,167	0.68	67,033	38,101	0.57	67,000	38,101	0.57
2008		68	15										
2009		74	23										
2010		83	25										
2011		41	9										
2012	2,070	21	5	0	-	-	-	45,561	31,469	0.69	45,540	31,461	0.69
2013	12,000	15	3	0	-	-	-	192,015	131,459	0.68	192,000	131,453	0.68
2014	20,000	13	5	0	-	-	-	238,013	162,174	0.68	238,000	162,170	0.68
2015	40,000	1	0	0	-	-	-	84,601	42,300	0.50	84,600	42,300	0.50
Totales		968	251										
Promedio					189,750			89,179		0.65	89,154		0.65

El promedio de las abundancias estimadas para la cohorte de un año de edad en diferentes periodos fue de 89,179 individuos, aunque con un coeficiente de variación muy elevado (~70%). Las simulaciones Monte Carlo a partir de la distribución de frecuencias de esta cohorte de un año de edad, tomando en cuenta las mortalidades naturales reportadas para las diferentes etapas de la historia de vida de la totoaba y otros sciánidos (Anexo III), sugieren que la población silvestre de totoaba está conformada por alrededor de 860,000 de individuos de entre 1 y 30 años de edad (Fig. 3).

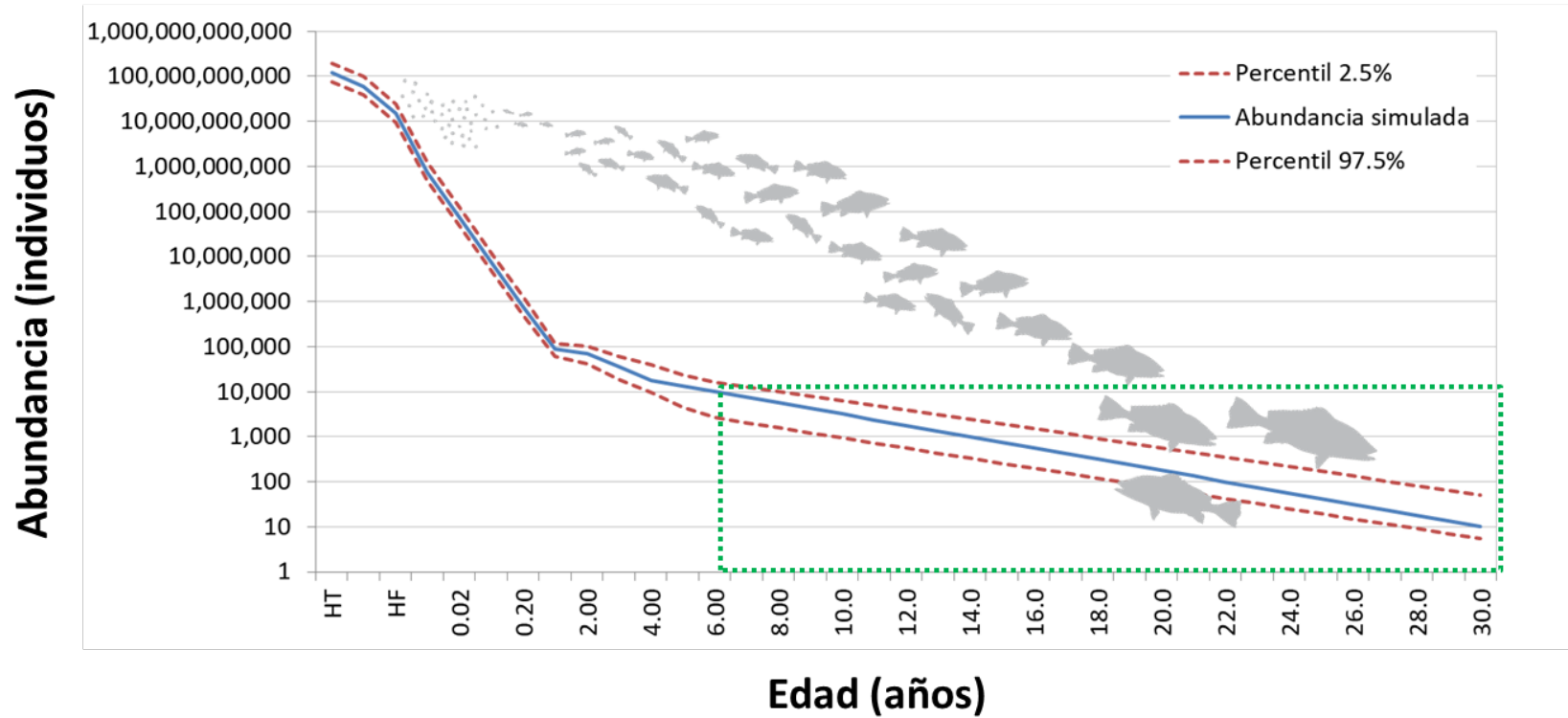


**Figura 3.** Simulación de Monte Carlo para el número de individuos de entre 1 y 30 años de edad en la población silvestre de totoaba. Las barras en color obscuro indican los intervalos de confianza al 95%.

Considerando que la edad de primera madurez de la especie es entre 6-7 años (Cisneros-Mata 1995, True 2012, De Anda et al. 2013), el resultado de las abundancias proyectadas hasta los 30 años de edad (Anexo IV), sugieren aproximadamente 40,000 individuos adultos (4% de la población total).

De la misma forma, con base en los reportes de la proporción de sexos y la fecundidad que se han reportado para la especie tanto en cautiverio (True 2012), como en la población silvestre (Berdegue 1955, Cisneros-Mata 1995, Pedrín-Osuna 2001, De Anda et al. 2013), 18,000 de esos 40,000 adultos corresponderían a hembras adultas. Este conjunto de hembras podrían estarían produciendo anualmente un promedio de 118 mil millones de huevos.

Considerando mortalidades de entre el 75 y el 95% para las primeras etapas de desarrollo, la cantidad estimada de huevos podría mantener estable una población de la magnitud que sugieren las simulaciones. En la Figura 4 se representa la abundancia por edades para la población de totoaba, en la que se muestra en la que se aprecia el comportamiento típico de una curva de sobrevivencia en peces de alta fecundidad (Fig. 4, Anexo IV).

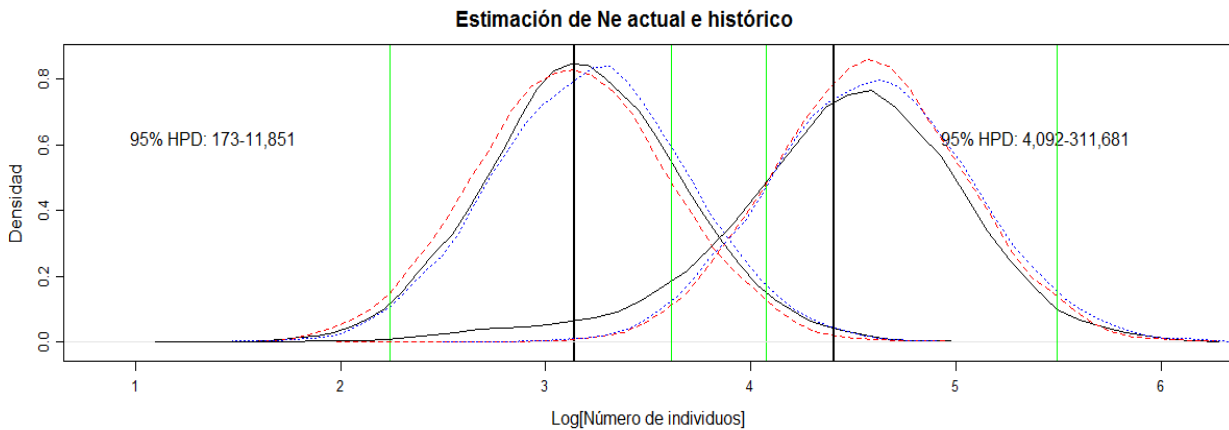


**Figura 4.** Simulación de la demografía de la población de totoaba basada en la estimación de los individuos de un año de edad. La abundancia para grupo de edades y los intervalos de confianza se reconstruyeron con base en simulaciones Monte Carlo de las distribuciones teóricas de las tasas de mortalidad total reportadas para totoaba y otras especies de sciánidos con historias de vida similares (ver Anexo IV). El recuadro en color verde indica el grupo de adultos reproductores.

## **Estimación relativa del tamaño poblacional: Tamaño efectivo**

El archivo de entrada correspondiente a los genotipos multilocus de las 251 muestras empleadas para llevar a cabo el análisis Bayesiano en el programa MsVar se presenta en el Anexo V.

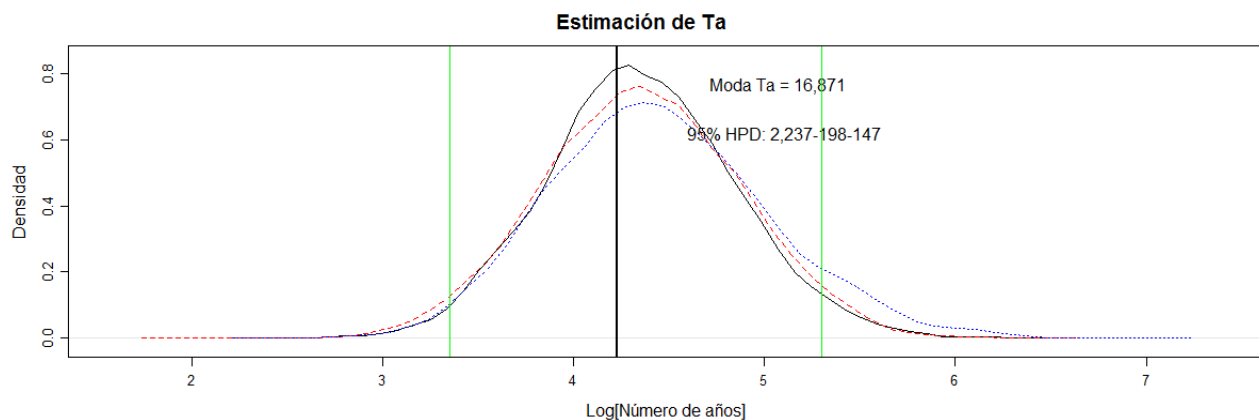
El análisis realizado mediante la rutina GDR indicó valores convergentes para los tres escenarios probados ( $N_0= 1.02$ ,  $N_1=1$ ,  $Ta= 1$  y  $\mu=1.01$ ). El tamaño efectivo actual resultó de 1,379 individuos (95% HPD: 173-11,851) y el tamaño efectivo ancestral de 25,487 individuos (95% HPD: 4,092-311,6810).



**Figura 5.** Distribuciones posteriores de los escenarios demográficos contrastados mediante inferencia Bayesiana en el programa MsVar. Las distribuciones trazadas con líneas negras representan el escenario de equilibrio demográfico, las rojas el escenario de reducción poblacional y las azules las de expansión poblacional. Las líneas verdes demarcan los intervalos de credibilidad para las estimaciones (HPD 95%), mientras que las modas se representan con líneas negras.

Pese a la marcada diferencia entre el tamaño efectivo contemporáneo y el ancestral, el resultado de la inferencia demográfica histórica no sustenta fuertemente un escenario de reducción de la población de totoaba. El valor obtenido para el factor de Bayes fue muy bajo ( $BF=1.70$ ), lo que se interpreta como una evidencia anecdótica de reducción poblacional que apenas vale la pena considerar. Muy probablemente este resultado sea reflejo del amplio intervalo de credibilidad de las estimaciones del tamaño efectivo.

Finalmente, el tiempo que ha transcurrido desde que ocurrió este cambio anecdótico, resultó ser de 16,871 años (95% HPD: 2,237-198,147). Pese al amplio intervalo de credibilidad, es claro que el periodo en el que esta supuesta reducción pudo haber ocurrido, queda fuera de la ventana temporal del impacto antropogénico sobre la especie (Fig. 6).



**Figura 6.** Distribuciones posteriores del tiempo desde que la población presentó el cambio demográfico. Se presentan la simulación efectuada bajo un escenario de estabilidad demográfica (línea negra), bajo un escenario de reducción poblacional (línea roja) y bajo un escenario de expansión demográfica (línea azul). Los intervalos de máxima credibilidad al 95%HPD están representados con las líneas verdes, mientras que la moda se representa con la línea negra.

# Discusión

## **Consideraciones metodológicas**

Al usar un método de marcaje-recaptura para poblaciones cerradas, existen varios factores que de una u otra forma violan parcialmente los supuestos del modelo. Si bien el marcaje genético garantiza la estabilidad y el reconocimiento de los individuos marcados, existe incertidumbre en cuanto a la supervivencia de los organismos producidos en cautiverio.

Es importante resaltar que el haber encontrado recapturas genéticas entre las muestras decomisadas, representa la primera evidencia de éxito y factibilidad del programa experimental de liberaciones. No obstante, al considerar las liberaciones de individuos producidos en cautiverio como primer periodo de captura, existe la probabilidad de que la supervivencia de estos sea inferior a los alevines silvestres (habilidad para conseguir su alimento y susceptibilidad a depredadores y patógenos). Al no contar con información detallada al respecto, el supuesto más cuestionable en el que se basa nuestra estimación, es que no existe mortalidad diferencial de alevines silvestres y producidos en cautiverio.

Por otro lado, al contar con un número de recapturas tan bajo, es obvio que las varianzas asociadas a las estimaciones serán amplias. En un futuro, la incorporación de muestras provenientes de la captura incidental de totoabas jóvenes en la pesca de arrastre de camarón, permitirá estimar la tasa de mortalidad, incrementar el número de recapturas y obtener estimaciones más precisas.

En lo que respecta a los valores de mortalidad empleados para las simulaciones demográficas, debe tomarse en cuenta que al no contar con estimaciones detalladas de la magnitud de la mortalidad por pesca, se asumió que la mortalidad estimada a partir de la distribución de tallas de la captura ilegal, es reflejo de la mortalidad total (mortalidad natural + mortalidad por pesca).

Finalmente, al haber excluido del análisis de genotificación aquellas muestras con linajes maternos no presentes en cautiverio, es muy probable que ciertas variantes o combinaciones de variantes se encuentren representadas. Esto podría explicar la diferencia en la estimación de  $N_e$  reportada para la totoaba previamente por Valenzuela-Quiñones y colaboradores (2014) con la obtenida en este trabajo. Pese a esto, ambas estimaciones se encuentran en el mismo orden de magnitud y resultaron mayores a las que se consideran los tamaños mínimos viables de población.

### **Tamaño censal de la población de totoaba**

Para enlistar a una especie en la NOM-059, es obligatorio presentar información científica que avale el estado de la población, sin embargo, la clasificación de la totoaba como especie en peligro de extinción, no presenta sustento tangible. Pese a que en el reporte de las especies en peligro de extinción dado en el 2010 por SEMARNAT incluye a la totoaba, al solicitar el análisis MER (Método de Evaluación de riesgo de extinción de especies silvestres en México) directamente a la sub-coordinación de enlace y transparencia de la CONABIO, declaran no contar con dicho análisis. Así, hoy por hoy no se cuenta con información precisa sobre la abundancia de la especie que permita evaluar el estado poblacional de *Totoaba macdonaldi* y que justifique la categoría de riesgo a la extinción en que se encuentra catalogada. De aquí la relevancia del presente trabajo que representa la primera aproximación para estimar los niveles de abundancia poblacional de la especie y evaluar las estrategias actuales de manejo y conservación del recurso.

Durante mucho tiempo se ha especulado que la disminución del flujo del río Colorado era el causante de las alteraciones en el Alto Golfo, afectando a las zonas de crianza y desove de muchas especies; particularmente de la totoaba y la vaquita

marina (Flanagan y Hendrickson, 1976; Cisneros-Mata et al., 1995; Lavin, 1999; Rodríguez et al., 2001, Váldez y Galindo 2013, Santamaría del Ángel, et al. 2017). Sin embargo, una revisión reciente sugiere que el Golfo de California, particularmente la región del Alto Golfo, no presenta un deterioro ambiental significativo (Brusca et.al, 2017).

Actualmente se considera que la principal problemática del Alto Golfo de California es la falta de regulación de la actividad pesquera (Márquez-Farías y Rosales-Juárez, 2013), De acuerdo con el testimonio de habitantes locales, pese a la amenaza directas que puede representar para la vaquita marina el uso de redes para la pesca ilegal de totoaba, esta última se ha mantenido relativamente constante durante los últimos 5 años.

Debido a la sobrepesca y el aumento de embarcaciones activas, ha comprometido la abundancia de estadios tempranos de diversas especies, sin dejar de lado a la totoaba. Se han reportado que el 92% de los individuos de totoaba que ocupan el Alto Golfo (siendo los más jóvenes) son atrapados por las redes camaroneras (Barrera-Guevara, 1990). Partiendo de esta captura incidental, se propone realiza un trabajo en conjunto con la cooperativa pesquera de camarón para tener acceso a los individuos atrapados en las redes. Con ellos, se podrían realizar estudios que brinden información precisa sobre la evaluación y estimación demográfica de los primeros años de la especie, abarcando temas como el éxito reproductivo y los linajes representativos.

Con base a los decomiso a los que nos dieron acceso, la muestra con la que se trabajó presentó un promedio de tallas con una distribución correspondiente a la

reportada en los años 50's, apoyando la idea de que la intensa pesquería de los años 40's no parece haber afectado a la población de manera significativa (Enríquez et al. 2014; Valenzuela-Quiñonez 2014, Enríquez et al. 2015, Valenzuela-Quiñones et al. 2016). En conjunto con esta evidencia más la amplia diversidad y variación de las frecuencias de los haplotipos maternos así como el bajo grado de parentesco entre los individuos (Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2013), sólo apunta a que la población sigue siendo lo suficientemente grande como para mantener una carga genética sana sin correr riesgo a la endogamia y ser capaz de responder los cambios ambientales.

La estimación realizada en este trabajo resultó ser de aproximadamente 1 millón individuos correspondientes al primer cohorte de edad, congruente con la estimación mostrada en el trabajo de Valdez (Váldez, 2010). Utilizando el resultado de Valdez procedimos a realizar una extrapolación a toda la zona de distribución de la primera cohorte de edad de la población, de la cual se obtuvo alrededor de 69 mil jóvenes, que al compararlo con nuestro resultado, vemos que se encuentran en el mismo orden de magnitud. Por otro lado, en los años 40's, siendo los año de mayor pesquería de totoaba, se reportaba aproximadamente 2,280 toneladas extraídas en promedio al año (Arvizu et al, 1972;, Flanagan et al, 1976), así como los niveles de pesca incidental de individuos jóvenes reportados por año que alcanzan en promedio 17 mil individuos atrapados en las redes camaroneras (Cisneros et al. 1995, Chávez 2009), siendo bajo el impacto de remoción con base en el millón de individuos aquí propuestos.

Contando con el número de individuos del primer año de edad, se pudo realizar la simulación demográfica. Para ello fue necesario tener los índices de sobrevivencia de la especie. Se tomaron diversos trabajos donde se muestra que la mortalidad

promedio en totoaba es del 25%(para individuos mayores a 6 años)(Conal, 2012; Valenzuela-Quíñonez, 2014). Sin embargo, no se cuenta con los porcentajes de mortalidad de las primeras etapas del desarrollo, a consecuencia, se utilizó información procedente de los reportes del cultivo en cautiverio de la población así como aquellos índices reportados para especies con metabolismo e historias de vida similares, (Pauly 1980, Holt 1981, Green 1985, Ross y Steven 1995, Cisneros-Mata et al. 1995, Cisneros-Mata 1997, Porsh 2000, Pedrín-Osuna 2001, Lercari y Chávez, 2007, Stewart y Scharf 2008, True 2012, De Anda-Montañez 2013, Valenzuela-Quíñones et al. 2014, Enríquez et al. 2015). Aplicando estos parámetros demográficos, nuestra simulación demográfica indica que la población de totoaba se encuentra estable, habiendo el número suficiente de individuos reproductivamente activos que dan origen a un reclutamiento tan grande como para que la abundancia de la especie no corra riesgo a un decremento.

Al utilizar el modelo de captura recaptura vimos que la población no se ajusta en su totalidad, por ello se adecuó de tal manera que las condiciones actuales de la interacción humana con la especie (siendo la pesca ilegal la principal) fueran provechosas para realizar la estimación, evitando que este trabajo resultara un factor más de explotación de la especie. Se logró la colaboración entre PROFEPA, PGR y SEMARNAT, para hacer uso de los decomisos realizados entre el 2013 y 2015. Dentro de los cargamentos ilegales con los que se trabajó, se identificaron las recapturas (procedentes del programa experimental de repoblamiento), indicando que el programa experimental de suplementaciones realizado por la UABC es exitoso.

Es importante resaltar que los dos individuos recapturados correspondieron a liberaciones de unos cuantos cientos de alevines. Sin embargo del 2013 a la fecha se han liberado decenas de miles de individuos, por lo que se podría esperar que en los decomisos o capturas de los próximos años se encuentren mayor número de recapturas que permitan no solo corroborar las estimaciones de abundancia aquí obtenidas, sino disminuir la varianza asociada con un bajo número de recapturas. De aquí la importancia de continuar con el trabajo de captura recaptura, coordinando esfuerzos con las autoridades encargadas de la administración y evaluación de los recursos pesqueros, las de protección ambiental, las otras unidades de manejo ambiental y las organizaciones civiles.

Pese a que hay tres unidades de manejo ambiental que realizan liberaciones de alevines de totoaba al Golfo de California, no existe un plan de trabajo en conjunto. Esta actividad, debe realizarse de manera coordinada y llevando un estrecho seguimiento de las liberaciones para no comprometer la variabilidad genética de la población. Es de carácter prioritario contar con las bases de datos de todas las variantes génicas correspondientes de los lotes liberados al medio natural, así se podría monitorizar las mortalidades, los niveles de heterocigosidad y tener mejores estimaciones de la abundancia de la especie. Aunado a esto, es necesario mantener una relación coherente entre el número individuos liberados y el número de individuos silvestres de menos de un año de edad, fundamentada en las estimaciones abundancia. Esto debe ser un foco de atención, ya que al no mantener dicha relación se corre el riesgo de liberar tal cantidad de individuos que terminarían teniendo una mayor representación o, en el peor de los casos, reemplazar a aquellos de la

población natural. Ante todo, se debe evitar conducir a la población a una endogamia como consecuencia de las liberaciones, por ello se sugiere utilizar mayor número de reproductores con alelos distintos para mantener la diversidad genética.

### **Tamaño efectivo de la población**

Calcular el tamaño efectivo de las poblaciones con métodos genéticos resulta difícil, ya que este es medible después de un cambio significativo en las variantes y frecuencias génicas, tales como un cuello de botella, una depresión endogámica o falta de conocimiento sobre la proporción de sexos en los adultos reproductores (Liukart 2010). Los resultados del presente trabajo, aportan evidencia adicional que sugiere, al igual que la mayor parte de los estudios genéticos sobre la historia demográfica de la población silvestre de la totoaba, que esta no sufrió un cuello de botella reciente y que presenta niveles elevados de variabilidad genética (Enríquez et al. 2008, Calderón et al. 2013, Valenzuela-Quiñones 2016).

Por su parte, tomando en cuenta que la estimación del tamaño efectivo ( $N_e$ ) resultó de aproximadamente 1,380 individuos, mientras que el número de adultos en la población ( $N_c$ ) fue de 40,000 individuos, la razón  $N_e/N_c$  que se obtiene es de 0.035. Al comparar esta razón con la reportado por Turner (2002) para *Sciaenops ocellatus* ( $N_e/N_c = 0.0007$ ), cuya población adulta se ha estimado en 6 millones de individuos, esta resulta ser drásticamente mayor en totoaba. Ya que la varianza en el éxito reproductivo es inversamente proporcional a la razón  $N_e/N_c$  en poblaciones de peces como la de estos sciánidos (Turner 2002), aparentemente en la población de totoaba existe menor varianza en el éxito reproductivo.

El tamaño efectivo ancestral de la población de totoaba, según en el trabajo hecho por Valenzuela-Quiñonez en el 2014, registró que no hay descarte de una reducción, pese al fuerte soporte que brindó el factor de bayes hacia una reducción poblacional. En el año 2016, el mismo equipo de trabajo, realizaron un análisis Bayesian Sky Plot, donde indican que la población efectiva tuvo un incremento a partir de la primera glaciación pero no descartan el escenario de una estabilidad poblacional, basados en el intervalo de confianza al 95% (mismo intervalo que se utilizó en este trabajo). Así, las varianzas determinadas aquí como en el reportado por Valenzuela-Quiñonez, presentan gran traslape, imposibilitando el descarte de la estabilidad.

### **Tamaño efectivo mínimo viable de una población**

No existe una cifra universal que determine el tamaño mínimo de las poblaciones (Franklin, 1980; Brook, 2011). Para realizar esta estimación, es necesario revisar con sumo detalle la biología de la especie, el hábitat que ocupa y las condiciones de explotación, uso o manejo que pudiera presentar, ya que para cada especie es distinto (Reed et al, 2003; O`Grady et al, 2004). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que aquellas poblaciones que cuentan con una  $N_e$  menor a 50, corren el riesgo a una endogamia inminente en un espacio temporal sumamente corto (Franklin, 1980). Otra evidencia indica que para considerar a una población estable, la proporción de  $N_e/N$  debería corresponder a 1:5 o 1:10 (Nunney y Campbell 1993). Por otro lado, algunos estudios han sugerido que en una población de 2,000 individuos, un tamaño efectivo mínimo viable de aproximadamente 200 sería necesario para no comprometer la eficiencia biológica de esta (Schultz y Lynch 1997, Whitlock 2000).

De esta manera se resalta la estrecha relación que existe entre una  $N_e$  muy pequeña y la extinción de la especie (Reed et al. 2003, Brook et al. 2011). Como consecuencia, basándonos en las evidencias previas y en el resultado del tamaño efectivo de totoaba (aproximadamente 40mil individuos que representa el 3.9% de la población total), podemos concluir que la población de totoaba presenta una  $N_e$  lo suficientemente grande como para mantener a la población fuera del riesgo de sufrir una endogamia, siempre y cuando mantenga o aumente la proporción de  $N_e/N$ .

### **Estado actual de conservación de la totoaba**

Con la información lograda, se pueden emprender medidas de protección y de aprovechamiento de la especie, empezando por el uso sustentable del recurso. El tamaño de la población, al no presentar riesgos de un decline, se sugiere que sea aprovechada de manera controlada a través de la pesca deportiva con línea, utilizando anzuelo Mustard num 7.0, que de esta manera no se comprometen otras especies de la zona (como la vaquita marina), ni se atenta contra la biodiversidad, como lo hace la pesca con malla de arrastre. Con esto se pretende fomentar la pesca de totoaba en los pescadores de la localidad y disminuir la pesca ilegal.

Basados en toda la información brindada hasta el momento con respecto al estado poblacional de totoaba, junto a los datos aquí propuestos, se puede sugerir un cambio de categoría de protección a esta especie que ha estado por más de 40 años en la categoría de Peligro de extinción (según la NOM-059) y en el CITES apéndice I. La evidencia con la que contamos actualmente apunta a que la especie toleraría una categoría de Amenaza de acuerdo a la NOM-059 y a un CITES apéndice II. Ambas

categorías contienen a aquellas especies que no se encuentran en peligro de extinción latente, pero al no tener cuidado del uso y manejo sustentable del recurso o conservación del hábitat, el riesgo de su abundancia a corto/mediano plazo se ve comprometido. De esta manera, al cambiar de categoría de riesgo, se puede impulsar la economía local por medio del turismo perfilado a la pesca deportiva controlada, fomentar el arte de pesca entre los lugareños y abrir el comercio nacional de la totoaba y sus derivados.

## Conclusiones

1. El marcaje genético en la totoaba aportó la primera evidencia de éxito y factibilidad de las liberaciones experimentales para la implementación de un programa de suplementación a la población silvestre.
2. La estimación de abundancia basada en modelos de marcaje-recaptura resultó congruente con otras evidencias sobre los niveles de abundancia de la especie en vida libre y sugiere que, aún con los niveles de extracción ilegal que se han presentado en los últimos años, la tendencia demográfica de la población es estable.
3. Tomando en cuenta que la cohorte de edad de alrededor de un año se estimó en cerca de 90,000 individuos, debe de evaluarse el número y la diversidad genética de los individuos que se están liberando para mantener los niveles de variabilidad actuales y evitar la endogamia.
4. La inferencia sobre la historia demográfica de la totoaba apunta hacia un escenario con cambios no significativos del tamaño efectivo, los cuales ocurrieron en una ventana temporal previa al impacto antropogénico sobre la población.
5. El tamaño efectivo estimado para la población de totoaba se encuentra en el mismo orden de magnitud que el tamaño mínimo viable recomendando para garantizar la conservación a largo plazo de las poblaciones silvestres.
6. En conjunto, los resultados del presente estudio aportan evidencia adicional que soporta la idea de que el estado de conservación de la totoaba no corresponde al de una especie en peligro de extinción.

## Referencias bibliográficas

- Aljanabi, S. M., & Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25(22), 4692-4693.
- Allendorf F.W., Ryman N. (2002). The role of genetics in population viability analysis. In *population viability analysis*. The University of Chicago Press, Ltd., London.
- Arvizu, J., Chávez, H. (1972). Sinopsis sobre la biología de la Totoaba. *Cynoscion macdonaldi* (Gilbert, 1890) *FAO Fisheries Synopsis* (108): 26 pp.
- Badii, M. H., A. Guillen, J. Landeros, E. Cerna, Y. Ochoa, & Valenzuela, J. (2012). Sampling via Capture-Recapture Methods. *International Journal of Good Conscience*, 7(1), 97-131.
- Barrera-Guevara, J. (1990). The conservation of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert), (Pisces: Sciaenidae), in the Gulf of California, Mexico. *Fish Biology*, 37(A), 201-202.
- Beaumont, M. A. (1999). Detecting Population Expansion and Decline Using Microsatellites. *Genetics Society of America*(153), 2013-2019.
- Blanco, M. d. L. (1993). Pobreza y explotación de recursos pesqueros en el Alto Golfo de California. *Comercio exterior*, 10, 03-11.
- Breton, S., & Stewart, D. T. (2015). Atypical mitochondrial inheritance patterns in eukaryotes. *Genome*, 58(10), 423-431. doi:10.1139/gen-2015-0090

- Brook, B. W., Bradshaw, C. J., Traill, L. W., & Frankham, R. (2011). Minimum viable population size: not magic, but necessary. *Trends in ecology & evolution*, 26(12), 619-620.
- Brusca, R. C., Álvarez-Borrego, S., Hastings, P. A., & Findley, L. T. (2017). Colorado River flow and biological productivity in the Northern Gulf of California, Mexico. *Earth-Science Reviews*, 164, 1-30.
- Burnham-Curtis, M.K., L. Enríquez-Paredes, C.D. True, N. Victoria-Cota. (2015). Forensic Identification of *Totoaba macdonaldi*: Rapid identification and tracking of illegal shipments. Society for Wildlife Forensic Science. North American Forensic Entomology Association- Missoula, Montana.
- Calderón-Marmolejo, T.N., C.D. True, F. Camarena-Rosales y L. Enríquez-Paredes. (2013). Optimización y evaluación de marcadores microsatélites para el análisis de la diversidad genética y los niveles de parentesco en la totoaba (*Totoaba macdonaldi*). XIII Congreso del Mar de Cortés y VII Simposio Internacional del Mar de Cortés.
- Castellanos, C. (2006). Extinción: Causas y efectos sobre la diversidad biológica. *Luna Azul*, 23, 33-37.
- Cerda-Balcázar, K., N. Victoria-Cota, T. Calderón-Marmolejo, C. True, M. Burnham-Curtis & L. Enríquez-Paredes. (2016). Aproximación de la abundancia absoluta de la población de totoaba con base en datos de captura-recaptura genéticos. XIV Congreso de la Asociación de Investigadores del

Mar de Cortés, y VII Simposium Internacional sobre el Mar de Cortés. La Paz, Baja California Sur.

Chao, A., & Huggins, R. M. (2010). Two Classical Closed-population Capture–Recapture Models. In T. L. M. Steven C. Amstrup, Bryan F.J. Manly (Ed.), *Handbook of Capture-Recapture Analysis*: Princeton University Press.

Charlesworth, B. (1994). *Evolution in Age-structured Populations*. Cambridge: University of Cambridge Press. pp. 28–30. ISBN 0-521-45967-2.

Chávez, J. C. (2009). Conflictos costeros en México frente a los nuevos retos del desarrollo económmico.

Cisneros Mata, M. A., Montemayo Lopez, G., & Román Rodríguez, M. J. (1995). Life History and Conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conservation Biology*, 9(4), 806-814.

Cisneros-Mata, M. A., Botsford, L. W., & Quinn, J. F. (1997). Projecting variability of *Totoaba macdonaldi*, a population with unknown age-dependent variability *Ecological Applications*, 7 (3), 968–980.

Coale, A.J. (1972). *The Growth and Structure of Human Populations*. Princeton University Press. pp. 18–19.

De Anda-Montañez J.A., García de León F.J., Zenteno-Savín T., Balart-Paez E., Méndez-Rodríguez L.C., Bocanegra-Castillo N., Martínez-Aguilar S., Campos-Dávila L., Román Rodríguez M.J., Valenzuela-Quiñonez F., Rodríguez-Jaramillo M.E., Meza-Chávez M.E., Ramírez-Rosas J.J.,

Saldaña-Hernández I.J., Olguín-Monroy N.O., Martínez-Delgado M.E. (2013). Estado de salud y estatus de conservación de la(s) población(es) de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) en el Golfo de California: una especie en peligro de extinción. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, Baja California Sur. Informe Final, SNIB-CONABIO. Proyecto No. HK050.

De Mitcheson, Y. S. (2001). The threat of fishing to highly fecund fishes. *Journal of Fish Biology*, 59, 90-108. doi:10.1111/j.1095-8649.2001.tb01381.x

De Mitcheson, Y. S. (2016). Mainstreaming Fish Spawning Aggregations into Fishery Management Calls for a Precautionary Approach. *BioScience*, 66(4), 295-306. doi:10.1093/biosci/biw013

Denisse, S. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010: Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo.

Díaz García, D. A., & Ojeda Revah, L. (2014). La Reserva de la Biosfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado: planeación territorial. *Región y sociedad*, 58(187-3925).

Enríquez-Paredes, L., N. Victoria-Cota, M.K. Burnham-Curtis & C.D. True. 2015. Totoaba Forensic Identification: Specific-Primers assay provides short-time results for a sharpen law. 145th American Fisheries Society. Portland, Oregon.

- Enríquez-Paredes, L., Schramm, Y., De la Rosa, J., Quezada, J., True, C.D., Galarza, J. 2008. Identidad y demografía histórica de la totoaba *Totoaba macdonaldi* (Gilbert 1890) con base en sus niveles de diversidad genética mitocondrial. En: Resúmenes del XI Congreso Nacional de Ictiología (SIMAC). 28 al 31 de octubre de 2008. La Paz, Baja California Sur, México.
- Flanagan, A., & Hendrickson, J. (1976). Observation on the comercial fishery and reproductive biology of the Totoaba, *Cynoscion macdonaldi*, in the northern Gulf of California. *Fishery Bullenti*, 74(3).
- Frankham, R. (2009). Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetical Research*, 66(02), 95. doi:10.1017/s0016672300034455
- Franklin, I.R. (1980) in *Conservation Biology, an Evolutionary-Ecological Perspective* (Soule, M. and Wilcox, B.A., eds), pp. 135-150, Sinauer
- García de León, J., Valles Jimenez, R., Shaw, K., Ward, R., de Anda Montañez, J., & Martinez Delgado, M. (2010). Characterization of fourteen microsatellite loci in the endemic and threatened totoaba (*Totoaba macdonaldi*) from the Gulf of California. *Conservation Genet Resour*, 2(219–221).
- García-De León, F.J. 2013. La totoaba, un pez enigmático del golfo de California. *Investigación y Ciencia, Sección Panorama*, 436, 10-1.
- Gelman, A., & Rubin, D. B. (1992). Inference from Iterative Simulation Using Multiple Sequences. *Statistical Science*, 7(4), 457-511.

- Girod, C., Vitalis, R., Leblois, R., & Freville, H. (2011). Inferring population decline and expansion from microsatellite data: a simulation-based evaluation of the Msva method. *Genetics*, 188(1), 165-179. doi:10.1534/genetics.110.121764
- Green, A. W., Osburn, H. R., Matlock, G. C., & Hegen, H. E. (1985). Estimated survival rates for immature red drum in northwest Gulf of Mexico bays. *Fisheries Research*, 3, 263-277. doi:10.1016/0165-7836(85)90027-x
- Holt, G.J. 1990. Growth and development of red drum eggs and larvae. En: Chamberlain, G.W., Miget, R.J., Haby, M.G (Eds.). *Red Drum Aquaculture*, Texas A & M University. Sea Grant College Program, TAMU-SG-90-603, p. 46-50.
- Holt, J., Godbout, R. C., & Arnold, C. R. (1981). Effects of temperature and salinity on egg hatching and larval survival of red drum, *Sciaenops ocellata*: Texas A & M University, Sea Grant College Program.
- INEGI. (2016). Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). online.
- Kalinowski, S. T., & Waples, R. S. (2002). Relationship of effective to census size in fluctuating populations. *Conservation Biology*, 16(1), 129-136.
- Krebs, C. J. (1989). *Ecological methodology*. In 6 (Ed.): Harper & Row New York.
- Lavin, M., & Sánchez, S. (1999). On how the Colorado River affected the hydrography of the Upper Gulf of California. *Continental Shelf Research*, 19(12), 1545-1560.

- Leahey, R. E. L. (1998). La sexta extinción: el futuro de la vida y de la humanidad.
- Lercari, D. y Chávez, E. A. (2007). Possible causes related to historic stock depletion of the totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Perciformes: Sciaenidae), endemic to the Gulf of California. *Fisheries Research*, 86(2-3), 136-142. doi:10.1016/j.fishres.2007.05.010
- Luikart, G., Ryman, N., Tallmon, D. A., Schwartz, M. K. y Allendorf, F. W. (2010). Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conservation Genetics*, 11(2), 355-373. doi:10.1007/s10592-010-0050-7
- Márquez-Farías, J.F. y Rosales-Juárez, F. J. (2013). Intrinsic rebound potential of the endangered (*Totoaba macdonaldi*) population, endemic to the Gulf of California, México. *Fisheries Research*, 147, 150-153. doi:10.1016/j.fishres.2013.05.009
- Miller, R. R. (1961). Man and the changing fish fauna of the american southwest. *Papers of the Michigan Acadmy of Science, Arts and Letters XLVI(114.0)*.
- Morin, P. A., Martien, K. K., Archer, F. I., Cipriano, F., Steel, D., Jackson, J. y Taylor, B. L. (2010). Applied conservation genetics and the need for quality control and reporting of genetic data used in fisheries and wildlife management. *J Hered*, 101(1), 1-10. doi:10.1093/jhered/esp107

- Nathaniel, V. (2002). GIMLET: a computer program for analysing genetic individual identification data. *Molecular Ecology Notes*, 2, 377-379. doi:10.1046/j.1471-8278
- Nunney, L., & Campbell, K. A. (1993). Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(7), 234-239.
- O'Grady, J. J., Reed, D. H., Brook, B. W., & Frankham, R. (2004). What are the best correlates of predicted extinction risk?. *Biological Conservation*, 118(4), 513-520.
- O'Grady, J. J., Reed, D. H., Brook, B. W., & Frankham, R. (2004). What are the best correlates of predicted extinction risk?. *Biological Conservation*, 118(4), 513-520.
- Palstra, F. P., & Fraser, D. J. (2012). Effective/census population size ratio estimation: a compendium and appraisal. *Ecol Evol*, 2(9), 2357-2365. doi:10.1002/ece3.329
- Palstra, F. P., & Ruzzante, D. E. (2008). Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? *Molecular Ecology*, 17(15), 3428-3447. doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03842.x

- Pauly, D. (1980). On the interrelationships between natural mortality, growth parameters, and mean environmental temperature in 175 fish stocks. *J Cons Int Explor Mer*, 39, 175–192.
- Pedrín-Osuna, O., & Delgado-Marchena, M. (2001). Crecimiento y mortalidad de la totoaba, *Totoaba macdonaldi*, del alto golfo de California. *Ciencia Pesquera*, No. 15( 1306)
- Pollock, K. H. (1991). Review Papers: Modeling Capture, Recapture, and Removal Statistics for Estimation of Demographic Parameters for Fish and Wildlife Populations: Past, Present, and Future. *Journal of the American Statistical Association*, 86(413), 225-238. doi:10.1080/01621459.1991.10475022
- Porch, C. E. (2000). Status of the red drum stocks of the Gulf of Mexico.
- Quezada, J. 2009. Estudio preliminar de la variabilidad genética de la población natural de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) en el Alto Golfo de California. Tesis de Licenciatura. UADY. 64 pp.
- Quezada, X. (2009). ESTUDIO PRELIMINAR DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA POBLACIÓN NATURAL DE TOTOABA (*Totoaba acdonaldi*) EN EL ALTO GOLFO DE CALIFORNIA. (Licenciatura), UADY, Yucatán.
- Reed, D. H., O'Grady, J. J., Brook, B. W., Ballou, J. D., & Frankham, R. (2003). Estimates of minimum viable population sizes for vertebrates and factors influencing those estimates. *Biological Conservation*, 113(1), 23-34.

- Rodriguez, C. A., Flessa, K. W., & Dettman, D. L. (2001). Effects of upstream diversion of Colorado River water on the estuarine bivalve mollusc *Mulinia coloradoensis*. *Conservation Biology*, 15(1), 249-258.
- Rodríguez-Quiroz, G., Aragón-Noriega, E. A., Valenzuela-Quiñónez, W., & Esparza-Leal, H. M. (2010). Artisanal fisheries in the conservation zones of the Upper Gulf of California. *Revista de biología marina y oceanografía*, 45, 89-98.
- Rojas-Beacho, L., Reeves, R. R., & Jaramillo-Legorreta, A. (2006). Conservation of the vaquita *Phocoena sinus*. *Mammal Review*, 36(3), 179-216.
- Ross, J. L., Stevens, T. M., & Vaughan, D. S. (1995). Age, growth, mortality, and reproductive biology of red drums in North Carolina waters. *Transactions of the American Fisheries Society*, 124(1), 37-54.
- Schultz, S.T., Lynch, M., 1997. Mutation and extinction: the role of variable mutational effects, synergistic epistasis, beneficial mutations, and degree of outcrossing. *Evolution* 51, 1363–1371.
- SEMARNAT, Nadal, L. U., Antero, O. C., & Trouyet, M. S. (2013). Tráfico ilegal de vida silvestre (Recurso Electrónico).
- Smith, T. M. S., & Leo, R. (2007). *Ecología*: Madrid, ES: Pearson Educación.
- Sparre, P., & Venema, S. (1995). *Introducción to tropical fish stock assessment- Part 1: Manual*. *FAO Fisheries Technical paper*, 2(306/1), 47-120.

- Stewart, C. B., & Scharf, F. S. (2008). Estuarine Recruitment, Growth, and First-Year Survival of Juvenile Red Drum in North Carolina. *Transactions of the American Fisheries Society*, 137(4), 1089-1103. doi:10.1577/t07-176.1
- Tiedemann, R., Cipriano, F., Morin, P., Hoelzel, A., Palsbøll, P., Waples, R., . . . Double, M. (2012). Updated guidelines for DNA data quality control and error rate estimation, for genetic studies relevant to IWC management advice. Report to the Scientific Committee of the International Whaling Commission.
- Turner, T. F., Wares, J. P., & Gold, J. R. (2002). Genetic effective size is three orders of magnitude smaller than adult census size in an abundant, estuarine-dependent marine fish (*Sciaenops ocellatus*). *Genetics*, 162(3), 1329-1339. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1462333/pdf/12454077.pdf>
- Valdez-Muñoz, C., Aragón-Noriega, E. A., Ortega-Rubio, A., Salinas-Zavala, C. A., Arreola-Lizárraga, J. A., Hernández-Vázquez, S., & Beltrán Morales, L. F. (2010). Distribución y abundancia de juveniles de totoaba, *Totoaba macdonaldi* y la salinidad del hábitat de crianza. *Interciencia*, 35(2).
- Valenzuela Quinonez, F., Garza, J. C., de Anda Montanez, J. A., & Garcia de Leon, F. J. (2014). Inferring past demographic changes in a critically endangered marine fish after fishery collapse. *ICES Journal of Marine Science*, 71(7), 1619-1628. doi:10.1093/icesjms/fsu058

- Valenzuela-Quiñonez, F., De-Anda-Montanez, J. A., Gilbert-Horvath, E., Garza, J. C., & Garcia-De Leon, F. J. (2016). Panmixia in a Critically Endangered Fish: The Totoaba (*Totoaba macdonaldi*) in the Gulf of California. *J Hered*, 107(6), 496-503. doi:10.1093/jhered/esw046
- Valenzuela-Quiñones F., García de León F.J., De-Anda-Montañez J.A., Balart E.F. 2011. La Totoaba del Golfo de California, ¿una especie en peligro de extinción? *Interciencia* Vol 36:9
- Valenzuela-Quiñonez F., J.C. Garza, J.A. de-Anda-Montañez, F.J. García-de-León. 2014. Inferring past demographic changes in a critically endangered marine fish after fishery collapse. *ICES Journal of Marine Science*. doi:10.1093/icesjms/fsu058
- Valenzuela-Quiñonez, F., Arreguín-Sánchez, F., Salas-Márquez, S., García-De León, F. J., Garza, J. C., Román-Rodríguez, M. J., & De-Anda-Montañez, J. A. (2015). Critically Endangered totoaba *Totoaba macdonaldi*: signs of recovery and potential threats after a population collapse. *Endangered Species Research*, 29(1), 1-11. doi:10.3354/esr00693
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535-538. doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x

Waples, R.S., Do, C. 1994. Genetic risk associated with supplementation of Pacific salmonids: captive broodstock programs. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic*

Whitlock, M.C., 2000. Fixation of new alleles and the extinction of small populations: drift load, beneficial alleles, and sexual selection. *Evolution* 54, 1855–1861.

Williams, B. K., Nichols, J. D., & Conroy, M. J. (2002). *Analysis and management of animal populations*: Academic Press.

# Anexos

## Anexo I. Determinación de edad en totoaba con base en la longitud de la vejiga natatoria.

Con base en los datos morfológicos disponibles para los diferentes estadios de desarrollo de la totoaba en cautiverio y en vida libre (longitud total, longitud estándar y longitud de la vejiga natatoria; Roman-Rodríguez y Hammann 1997, UBP-FCM/UABC; datos no publicados) se obtuvieron, a través de un análisis de regresión lineal, una serie de ecuaciones lineales que permiten predecir de manera confiable la longitud estándar a partir de la longitud de la vejiga (fresca o seca). Las evidencias de crecimiento isométrico para la especie (Román-Rodríguez 1994, Román-Rodríguez 2000, De Anda et al. 2013, UBP datos no publicados) y los coeficientes de determinación obtenidos mediante estas ecuaciones ( $R^2 > 0.95$ ) validan el ajuste lineal empleado (Fig.I.1).

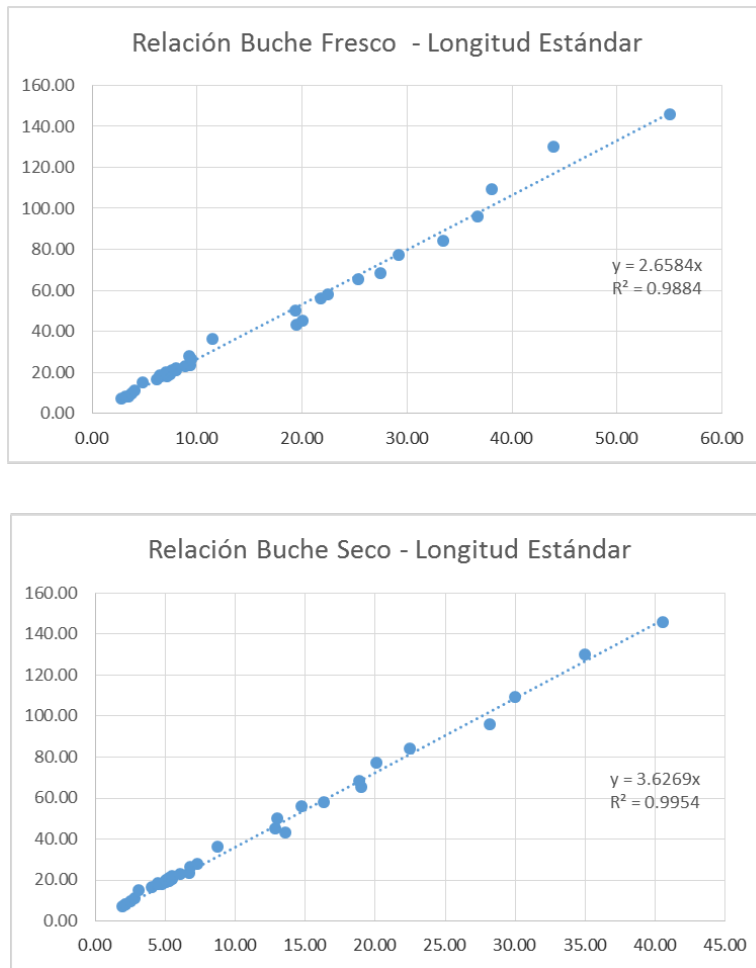


Figura I.1. Correlación entre la longitud de la vejiga natatoria (bucle) y la longitud estándar o patrón en la totoaba. Se muestra el ajuste lineal para los bucles frescos (A) y los bucles secos (B). En el eje de las abscisas se presentan la longitud de los bucles en centímetros y en el eje de las ordenadas la longitud estándar del espécimen. Para obtener la longitud estándar a partir de un buche fresco basta multiplicar la longitud del buche por 2.65.

A partir de los datos de un nuevo análisis de regresión lineal con los datos de longitud estándar y longitud total de los organismos de la UBP-FCM/UABC, se obtuvo una ecuación para el cálculo de la longitud total (Fig. 2)

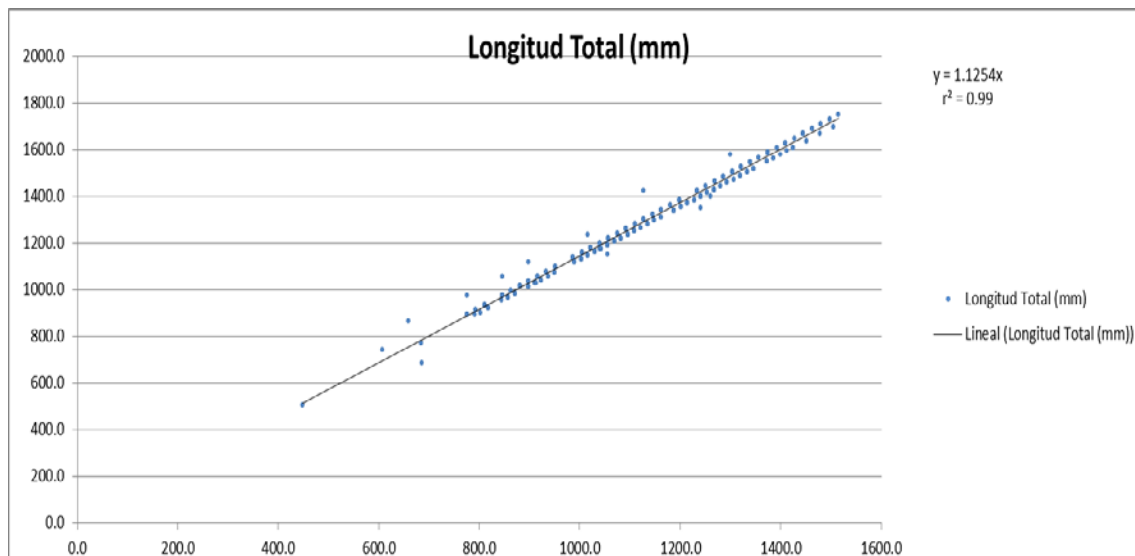


Figura I.2. Correlación entre la longitud estándar o patrón de la vejiga natatoria (buche) y la longitud total en la totoaba. En el eje de las abscisas se presentan la longitud estándar o patrón de los organismos en milímetros y en el eje de las ordenadas la longitud total. Para obtener la longitud total a partir de la longitud estándar basta multiplicar esta última por 1.125.

En resumen, a partir de la longitud del buche es posible estimar la longitud total del organismo del que se extrajo. Esto puede hacerse de la siguiente forma:

$$\text{Longitud de buche fresco} \times 2.66 \times 1.125 = \text{Longitud total}$$

$$\text{Longitud de buche seco} \times 3.63 \times 1.125 = \text{Longitud total}$$

### Estimación de la edad a partir de los datos de longitud total

Aunque los valores de los parámetros de la ecuación del modelo de crecimiento de Von Bertalanffy que se han reportado en la literatura varían ligeramente, para la estimación de las edades se emplearon los parámetros ajustados con base del programa de reproducción en cautiverio (Tabla I.1, Fig. I.3). La principal diferencia entre los valores reportados y los empleados en el presente informe técnico, es la tasa de crecimiento. La tasa de crecimiento más baja puede deberse a un crecimiento más lento en condiciones de cautiverio, pero también puede estar asociada con el hecho de que es la única estimación que considera las primeras etapas de desarrollo.

Tabla I.1. Parámetros del modelo de crecimiento de Von Bertalanffy

Longitud Infinita (L $\infty$ )	Constante de crecimiento (k)	Edad de Longitud 0 (t $_0$ )	Fuente
139.0 cm	0.231 año <sup>-1</sup>	-1.10 años	Román-Rodríguez 1994
135.5 cm	0.316 año <sup>-1</sup>	-0.05 años	Román-Rodríguez 1997
169.9 cm	0.152 año <sup>-1</sup>	-0.61 años	Cisneros-Mata 1995
206.3 cm	0.174 año <sup>-1</sup>	-0.30 años	Pedrin-Osuna et al. 2001
156.6 cm	0.220 año <sup>-1</sup>	-0.65 años	De Anda et al. 2013
188.0 cm	0.110 año <sup>-1</sup>	-0.55 años	UBP-FCWUBP no publicado

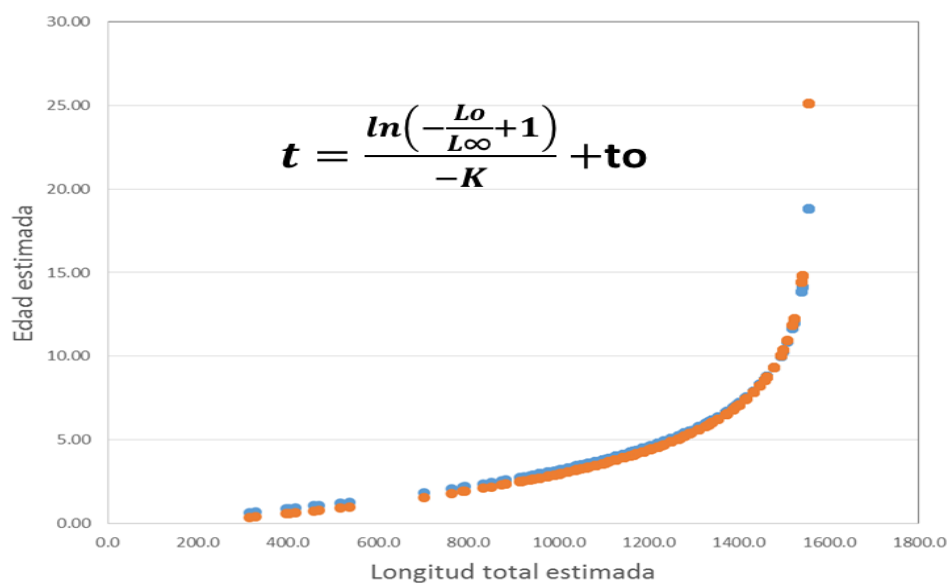


Figura I.3. Estimación de la edad a partir de la longitud total con base en el modelo de crecimiento de Von Bertalanffy.

## Anexo II. Panel de microsatélites empleados para la asignación de paternidad del presente estudio

En la siguientes dos tablas se presenta la información reportada y la obtenida en el presente estudio con respecto a la diversidad genética de los loci microsatélites empleados.

Tabla II.1. Loci microsatélites optimizados para totoaba. Se indica la especie o grupo de las que se obtuvo la secuencia (T: totoaba; S: sciánidos). El color en la columna de los loci indica el color del fluorocromo con el que fue marcado (azul: FAM, verde: VIC, negro: NED; rojo: PET ). Se incluye el número de alelos (NA), el recorrido alélico en pares de bases, el contenido de información (IC) y la probabilidad de identidad (PI) aditiva o acumulativa.

Especie	Referencia	Loci	NA	Recorrido alélico	IC	PI Acumulativo
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 074*	33	107-177	1	4.7E-03
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 554	31	174-248	2	4.9E-05
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 507*	29	158-330	3	5.1E-07
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 051*	30	115-179	4	7.2E-09
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 006*	29	127-185	5	1.5E-10
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 025*	19	142-173	6	3.6E-12
S	Calderón et al. 2013, Valenzuela-Quiñones 2014	Sc 418*	18	254-298	7	1.2E-13
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 055*	12	159-188	8	5.7E-15
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 004	15	141-170	9	2.9E-16
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 013	18	173-203	10	1.7E-17
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 826	9	162-186	11	1.0E-18
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 044*	12	182-233	12	7.8E-20
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 018*	13	266-312	13	6.4E-21
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 012	12	149-171	14	6.0E-22
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 609*	15	279-287	15	6.7E-23
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 003	17	170-222	16	7.7E-24
S	Calderón et al. 2013, Valenzuela-Quiñones 2014	Sc 423*	9	179-197	17	1.1E-24
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 002	9	271-291	18	1.8E-25
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 056*	10	178-206	19	3.3E-26
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 005	5	164-172	20	8.5E-27
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 014	9	160-174	21	2.4E-27
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 443*	4	212-224	22	8.7E-28
T	Díaz de León et al. 2010, Valenzuela-Quiñones et al. 2014	Sc 003T	5	151-157	23	3.3E-28
S	Calderón et al. 2013, Enríquez et al. 2015	Sc 973	5	199-211	24	2.2E-28

**Anexo II (continuación). Panel de microsatélites empleados para la asignación de paternidad del presente estudio.**

Tabla II.2. Diversidad genética observada en las muestras de decomisos de vejiga de totoaba reportadas en este estudio. Se indica el número de alelos (NA), la heterocigosidad esperada (He) y la heterocigosidad observada (Ho).

<b>Locus</b>	<b>NA</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
002a	7	0.6	0.51
003Ta	4	0.39	0.46
003a	12	0.67	0.73
004a	12	0.78	0.76
005a	4	0.41	0.35
006a	11	0.85	0.81
012a	8	0.7	0.65
013a	11	0.8	0.76
014a	4	0.49	0.49
018a	9	0.8	0.81
025a	14	0.89	0.92
044a	10	0.81	0.78
051a	15	0.9	0.76
055a	10	0.81	0.73
056a	7	0.66	0.65
074a	21	0.94	0.97
418a	14	0.87	0.97
423a	7	0.65	0.68
443a	4	0.5	0.51
507a	17	0.92	0.97
554a	22	0.87	0.89
609a	8	0.69	0.65
826a	7	0.8	0.86
973a	3	0.24	0.27
Promedio	10	0.71	0.71

### Anexo III. Distribuciones y parámetros empleados para las simulaciones de Monte Carlo con las que se estimó la abundancia de la población silvestre de totoaba.

Tabla III.1. Parámetros empleados para las simulaciones del tamaño de las cohortes de edad de la población silvestre de totoaba.

Grupo de edad	Mortalidad	Distribución teórica	Parámetros de la distribución			Referencias
			Ubicación	Media	Desviación estándar	
Huevos Viables	0.3	LogNormal	0.20	0.70	0.01	Porsh 2000; Stewart y Scharf 2008 (red drum); Green 1985 (red drum); Holt 1981 (red drum), True 2012 (totoaba); Green 1985 (red drum); Cisneros 1997 (tot); Ross y Stevens 1995 (red dum)
Huevos Fecundados	0.8	LogNormal	0.10	0.20	0.01	
Larvas tempranas (Eclosionados)	0.99	LogNormal	0.05	0.10	0.01	
Primera Semana (Larvas)	0.96	LogNormal	0.01	0.04	0.01	
1 mes (larvas tardías)	0.8	LogNormal	0.10	0.20	0.01	
2.5 meses	0.88	ND	ND	ND	ND	
11 meses	0.2	LogNormal	0.00	0.45	0.11	Green 1985 (red drum); Porsh 2000 (red drum); Stewart y Scharf 2008 (red drum); Ross y Stevens 1995 (red dum); Cisneros-Mata 1997 (totoaba)
2 años	0.5	LogNormal	0.00	0.40	0.10	
3 años	0.5	LogNormal	0.00	0.45	0.11	True 2012 (totoaba); Ross y Stevens 1995 (red dum); Pauly 1980 (sciánidos); Murphy 1983 (red drum); Green 1985 (red drum)
4 años	0.25	LogNormal	0.00	0.44	0.11	
5 años	0.25	LogNormal	0.00	0.30	0.10	Pedrín-Osuna 2001 (totoaba); True 2012 (totoaba); Ross y Stevens 1995 (red dum); Murphy 1983 (red drum)
6 años	0.25	LogNormal	0.00	0.45	0.08	
7 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.05	
8 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
9 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
10 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
11 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
12 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
13 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
14 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
15 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
16 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
17 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
18 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
19 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
20 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
21 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
22 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
23 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
24 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
25 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
26 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
27 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
28 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
29 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	
30 años	0.25	LogNormal	0.00	0.22	0.11	

## Anexo IV. Proyecciones de la estimación de abundancia por cohorte de edad.

Tabla IV.1. Simulaciones de Monte Carlo para estimar la abundancia de cada cohorte de edad de la población silvestre de totoaba. Se describe la abundancia proyectada de huevos totales (HT), huevos viables disponibles (HVD), huevos fecundados (HF), huevos eclosionados y las abundancias para cada grupo de edades desde los 6 días (0.02 años) hasta los 30 años.

Edad (años)	Caso base	Mortalidad	Percentil 2.5%	Abundancia simulada	Percentil 97.5%	Mortalidad total	Fecundidad promedio	% Sexo	Total de huevos
HT	118,202,075,696	0.50	76,831,349,202	118,202,075,696	195,033,424,898	0	0	0.5	0
HVD	59,101,037,848	0.75	38,415,674,601	59,101,037,848	97,516,712,449	59,101,037,848	0	0.5	0
HF	14,775,259,462	0.95	9,603,918,650	14,775,259,462	24,379,178,112	44,325,778,386	0	0.5	0
HE	738,762,973	0.90	480,195,933	738,762,973	1,218,958,906	14,036,496,489	0	0.5	0
0.02	73,876,297	0.90	48,019,593	73,876,297	121,895,891	664,886,676	0	0.5	0
0.04	7,387,630	0.90	4,801,959	7,387,630	12,189,589	66,488,668	0	0.5	0
0.20	738,763	0.88	480,196	738,763	1,218,959	6,648,867	0	0.5	0
0.90	89,179	0.20	59,543	88,652	117,826	650,111	0	0.5	0
2.00	71,343	0.50	41,572	71,343	100,019	17,836	0	0.5	0
3.00	35,672	0.50	18,586	35,672	61,492	35,672	0	0.45	0
4.00	17,836	0.25	9,709	17,836	39,919	17,836	0	0.45	0
5.00	13,377	0.25	4,424	13,377	24,085	4,459	0	0.45	0
6.00	10,033	0.25	2,631	10,033	16,472	3,344	150,000	0.45	677,202,728
7.00	7,524	0.25	2,032	7,524	12,978	2,508	250,000	0.45	846,503,409
8.00	5,643	0.25	1,568	5,643	10,216	1,881	2,265,000	0.45	5,751,990,667
9.00	4,233	0.25	1,212	4,233	8,030	1,411	10,422,000	0.45	19,850,081,698
10.0	3,174	0.25	937	3,174	6,316	1,058	13,027,500	0.45	18,609,451,592
11.0	2,381	0.25	724	2,381	4,969	794	14,027,500	0.45	15,028,444,571
12.0	1,786	0.25	559	1,786	3,909	595	15,027,500	0.45	12,074,850,337
13.0	1,339	0.25	432	1,339	3,076	446	16,027,500	0.45	9,658,775,434
14.0	1,004	0.25	334	1,004	2,419	335	17,027,500	0.45	7,696,059,836
15.0	753	0.25	258	753	1,903	251	18,027,500	0.45	6,111,028,573
16.0	565	0.25	200	565	1,495	188	19,027,500	0.45	4,837,509,201
17.0	424	0.25	154	424	1,175	141	20,027,500	0.45	3,818,810,230
18.0	318	0.25	119	318	924	106	21,027,500	0.45	3,007,116,419
19.0	238	0.25	92	238	726	79	22,027,500	0.45	2,362,593,874
20.0	179	0.25	71	179	570	60	23,027,500	0.45	1,852,387,826
21.0	134	0.25	55	134	448	45	24,027,500	0.45	1,449,622,684
22.0	101	0.25	43	101	352	34	25,027,500	0.45	1,132,465,874
23.0	75	0.25	33	75	277	25	26,027,500	0.45	883,286,052
24.0	57	0.25	25	57	217	19	27,027,500	0.45	687,917,023
25.0	42	0.25	20	42	171	14	28,027,500	0.45	535,027,131
26.0	32	0.25	15	32	134	11	29,027,500	0.45	415,587,371
27.0	24	0.25	12	24	105	8	30,027,500	0.45	322,428,295
28.0	18	0.25	9	18	83	6	31,027,500	0.45	249,874,546
29.0	13	0.25	7	13	65	4	32,027,500	0.45	193,445,904
30.0	10	0.25	5	10	51	3	33,027,500	0.45	149,614,423
Total 1-30 años	1,006,270								
Total adultos	40,100								
Total de huevos									118,202,075,696

## Anexo V. Archivos de entrada con los parámetros empleados para el análisis de inferencia demográfica en el programa MsVar.

### Inifile

24

11

1 5 1 6 126 398 49 8 96 17 2

0 1 3 4 5 6 7 8 9 10 11

5

424 100 376 1

0 1 2 3 4

18

1 4 3 5 72 23 7 25 33 12 387 54 56 11 11 1 3 1

0 5 6 8 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 24 26

18

6 58 46 51 8 246 92 5 44 35 18 13 8 8 8 5 3 1

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17

7

98 338 36 62 1 1 1

0 1 2 3 4 9 12

28

4 4 2 1 2 80 18 11 3 120 86 60 65 33 24 32 27 55 9 1 3 2 1 2 1 1 1

0 3 4 5 6 7 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30

16

4 7 29 6 1 14 43 72 187 33 18 50 2 1 2 1

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

16

10 18 85 145 212 75 1 63 8 39 9 2 5 6 1

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 1 12 13 14 15

8

3 263 80 334 6 3 1

0 2 3 4 5 6 7 8  
14  
1 4 5 133 46 171 188 41 4 3 14 1 1 1  
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 13 14 15  
16  
35 24 1 89 13 10 29 96 67 25 62 11 36 1 2 2  
0 1 2 3 4 5 6 7 9 10 11 12 13 14 15 16  
12  
4 16 28 17 22 31 68 155 45 18 1 1  
0 1 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14  
31  
2 8 11 177 8 1 19 97 41 16 19 33 30 51 30 16 63 16 9 14 9 17 13 7 4 3 2 1 1 1  
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 26 27 28 29 30 32  
12  
1 95 6 31 40 56 59 65 10 208 30 13  
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11  
10  
1 3 13 6 2 26 110 74 17 4 1  
0 4 5 7 8 10 11 12 13 14  
33  
5 50 4 27 13 12 20 17 21 11 25 6 34 37 26 35 20 38 29 13 18 5 7 7 2 2 1 1 9 4 1 2 2  
0 1 2 3 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 27 28 30 31 32 33 34 35  
18  
14 64 44 6 1 120 34 9 27 8 30 2 3 12 25 8 2 1  
0 1 2 4 6 7 8 9 10 11 12 14 15 18 19 20 21 22  
9  
8 208 8 81 34 69 8 3 1  
0 1 2 3 4 5 6 7 9  
4  
6 146 49 7  
0 4 5 6  
24  
1 1 5 3 8 3 11 18 39 37 66 66 71 58 50 55 34 28 17 9 10 4 4 4

