

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

**“Diversidad genética de la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*)
en la Reserva de la Biosfera del
Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado”**

TESIS
**Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para
obtener el grado de**
Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología



Presenta

Karla Ríos Medina

Ensenada, Baja California, México.

Enero del 2012

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

**“Diversidad genética de la corvina golfinia (*Cynoscion othonopterus*)
en la Reserva de la Biosfera del
Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado”**

T E S I S

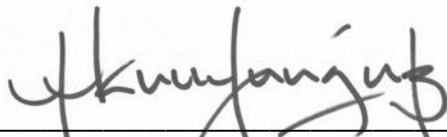
QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

KARLA RIOS MEDINA

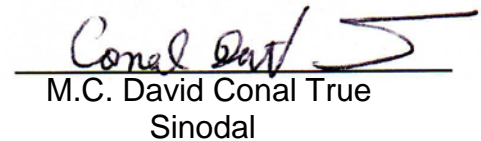
Aprobada por:



Dr. Luis M. Enríquez Paredes
Director de tesis



Dr. Faustino Camarena Rosales
Sinodal



M.C. David Conal True
Sinodal

DEDICATORIA

Como resultado de varios años de trabajo que incluyen muchas experiencias llenas de aprendizajes, dedico esta tesis a la **Vida**.

Cito para ello algunas estrofas de un hermoso texto:

“Saboreo cada acto.

El árbol anciano me enseñó que todos somos lo mismo.

La montaña es mi punto de referencia:
ser invulnerable, que cada uno diga lo que quiera,
yo sigo caminando indetenible.

**Soy guerrero:
mi espada es el amor,
mi escudo el humor,
mi hogar la coherencia,
mi texto la libertad.**

El que tú no veas los átomos, no significa que no existan.

Por eso es muy importante que sea el Amor
lo único que inspire tus actos.

No es suficiente querer despertar, sino despertar.

Es más importante amar lo que hacemos
y disfrutar de todo el trayecto.

No, no te resistas, ríndete a la vida.

Quien acepta lo que es y se habilita para hacer lo que puede,
encarna las utopías y lo imposible se pone a disposición.

Reconstruye tu raíz y saborea la vida.

Cuando somos más grandes que lo que hacemos, nada puede desequilibrarnos.

Nuestro potencial interior aflora espontáneamente cuando nos dejamos en paz.

Quizá sólo seamos agua fluyendo; el camino nos lo tenemos que hacer nosotros.
Más no permitas que el cauce esclavice al río, no sea que en vez de un camino tengas una cárcel.

Amo mi locura que me vacuna contra la estupidez.

Amo el amor que me inmuniza ante la infelicidad
que pulula por doquier, infectando almas
y atrofiando corazones.

El amor es, a nivel sutil,
la esencia de nuestra instancia inmunológica.

Disfruta de lo que tienes, recibe lo que venga,
crea e inventa lo que necesites, haz sólo lo que puedas,
y fundamentalmente celebra lo que tengas.

La vida es un canto a la belleza,
una convocatoria a la transparencia

Cuando esto lo descubras desde la vivencia,
el viento volverá a ser tu amigo,
el árbol se tornará en maestro
y el amanecer en ritual.

La noche se vestirá de colores,
las estrellas hablarán el idioma del corazón
y el espíritu de la tierra reposará otra vez tranquilo.

¡Me declaro vivo!

Chamalú.
Indio Quechua

AGRADECIMIENTOS

- A mi director de tesis Dr. Luis Enríquez Paredes, por su incondicional apoyo y guía para llevar a cabo este trabajo, pero por sobre todo: gracias por ser un tutor, gracias por ser un maestro, gracias por ser un padre, gracias por ser un hermano, gracias por ser un amigo. GRACIAS.
- A mi sinodal el Dr. Faustino Camarena Rosales, por las recomendaciones hechas para pulir este trabajo y por las sonrisas compartidas en las salidas de campo y en cada saludo.
- A mi sinodal el M.C. Conal David True, por las valiosas aportaciones para enriquecer y culminar este trabajo.
- A CONACyT por el proyecto de fondo institucional No. 90142 con el que pudo llevarse a cabo esta investigación, así como por la beca de estudios de Maestría No. A236530, pues solo así logre estudiar y trabajar en este proyecto de investigación sin mayores preocupaciones económicas, durante los dos años del posgrado.
- A la Sociedad Cooperativa de producción pesquera “Playa Curvina” de Santa Clara Sonora, por facilitar las muestras para el análisis genético realizado en el proyecto.
- A la Sociedad Cooperativa de producción pesquera “Felipe Angeles SCL” de San Felipe B.C., por las muestras otorgadas para el análisis genético realizado en el proyecto.
- A los Sres. Andrés Rubio (†) y Ramón Franco Díaz de la Sociedad de Cooperativas Ribereñas de San Felipe, Baja California, por el apoyo otorgado para la obtención de las muestras.
- Al Biol. José Rafael Campoy Favela (†), al Ing. Iram García Bañez y al Ecol. Martín Sau Soto, trabajadores de la CONANP, por todas las facilidades y apoyo brindado para la realización del muestreo.

- A las estudiantes María V. Gallardo, Ana R. Sandoval y Sandra D. Lizarraga por su colaboración en las extracciones de DNA de las muestras del 2009. También a la maestra Blanca Navarro y a los estudiantes Lluvia Dorantes, Sara Enciso y Juan Antonio Ramírez por su apoyo en las salidas de campo.
- Al Dr. Guillermo Torres Moye, un agradecimiento infinito por su apoyo y amistad.
- A mis amigos cercanos de corazón y no así de distancia: Barraza, Denisse, Ale y Pollo porque a pesar del tiempo y la lejanía siempre han seguido presentes en mi vida.
- A todos mis amigos de Querétaro y también aquellos con los que crucé camino en Ensenada, a quienes no citare por nombre para evitar omisiones despistadas, a todos ustedes, por los momentos que compartimos en estos años de posgrado, llámese estudio, caminatas y atardeceres playeros, campamentos, yoga, reiki, comidas, cafés, películas y fiestas también ja! .
- A Mahra, porque agradezco infinitamente haberte encontrado en mi camino, conocer tu magia y recibir tus enseñanzas. Gracias por recordarme lo brujita que ya era y hacerme un poco más brujita jajaja.
- A mis tías y primos por todo el amor que me han brindado.
- A mis hermanos, por la compañía física y/o emocional a lo largo de mi vida.
- Y finalmente, a mi madre Nora E. Medina Chávez y a mis dos padres Miguel Ríos Martínez y Hugo Lastra Hiort, porque cada uno a su modo y en su momento, me ha dado infinito amor, como prueba del amor incondicional y eterno de un padre a un hijo.

RESUMEN

Dentro de la pesquerías de escama que llevan a cabo las comunidades pesqueras del Alto Golfo de California, uno de los principales recursos explotados es la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*). Aunque el análisis de la estructura de tallas y edades de las capturas ha generado información básica sobre la demografía y dinámica poblacional de la especie, se desconocen sus niveles de diversidad y estructura genética; aspectos relevantes que permiten evaluar la salud genética y la historia demográfica de una población y que deben tomarse en cuenta al plantear estrategias de manejo para especies explotadas comercialmente. Con el propósito de aportar esta información, se llevó a cabo un análisis genético molecular a partir de 137 muestras obtenidas del desembarque de la pesquería durante las temporadas de pesca de 2009 y 2010 en San Felipe, B.C. y el Golfo de Santa Clara, Son., México. La secuencia de tres genes mitocondriales (RC, COI y Cit B) y el genotipado con 5 microsatélites (Cac03, Cac13, Cac14, Cac18 y Tmac25) evidenció la presencia de otras especies de corvinas, con gran similitud morfológica, que forman parte de la captura incidental en la pesquería. A través del análisis filogenético y de una prueba de asignación poblacional con base en los genotipos multilocus se confirmó la presencia de al menos cuatro especies de corvinas en la pesquería. La identificación taxonómica resultó ambigua empleando las características diagnósticas, en contraste la identificación molecular con base en el las secuencias de Cit B permitió asignar al menos a las dos especies principales en la pesquería: la corvina golfina (*C. othonopterus*) y la corvina rayada (*C. reticulatus*), representando el 65.5% y el 30.3% de las capturas respectivamente. Los valores de diversidad genética mitocondriales y nucleares fueron menores para la corvina golfina ($H = 0.688$; $\pi = 0.004$; $H_o = 0.737$) que para la corvina rayada ($H = 0.986$; $\pi = 0.016$; $H_o = 0.766$). Tales valores, en conjunto con el análisis de la demografía histórica, colocan a la corvina golfina dentro de un escenario demográfico caracterizado por un cuello de botella y a la corvina rayada en un escenario demográficamente estable. Pese a que en la actualidad la captura de corvina golfina se encuentra regulada por la Carta Nacional Pesquera, las estrategias de administración no consideran la pesquería como multiespecífica. Los resultados obtenidos en el presente estudio indican no solo que cerca del 30% de la captura de corvina golfina corresponde a otra especie, sino que estas especies presentan distintos niveles de salud genética e historias demográficas contrastantes. Llama la atención el hecho de que la diversidad genética de corvina golfina resultara menor a la reportada para la totoaba (*Totoaba macdonaldi*; $H = 0.962$, $\pi = 0.013$; $H_o = 0.733$), especie considerada en peligro de extinción y que se encuentra veda permanente desde 1975. Lo anterior, debe ser tomado en cuenta al establecer una estrategia adecuada de manejo, cuyas regulaciones permitan el uso sustentable de estos recursos pesqueros.

ABSTRACT

Of the major finfish resource exploited by the fishing communities in the Upper Gulf of California's it's the Gulf weakfish (*Cynoscion othonopterus*). Although the analysis of the size and age structure of catches has generated basic information on the demography and population dynamics of this weakfish, the levels of diversity and genetic structure are unknown, two relevant aspects for assessing the genetic health and demographic history of a population and to be taken into account in management strategies to raise commercially exploited species. In order to provide this information, we conducted a molecular genetic analysis from 137 samples from the landing of the fishery during the fishing seasons of 2009 and 2010 in San Felipe, BC and the Gulf of Santa Clara, Son., Mexico. The sequence of three mitochondrial genes (RC, COI and Cit B) and with 5 microsatellite genotyping (CaC03, Cac13, Cac14, Cac18 and Tmac25) showed the presence of other species of weakfish, with great morphological similarities, which are part of the bycatch in the fishery. Phylogenetic analysis and population assignment tests based on multilocus genotypes confirmed the presence of at least four species of weakfish in the fishery. Although taxonomic identification was ambiguous when using morphometric parameters, molecular identification based on Cit B sequences allowed to assign to species level, at least to the two main species in the fishery: gulf weakfish (*C. othonopterus*) and striped weakfish (*C. reticulatus*), representing 65.5% and 30.3% of the catch respectively. The values of mitochondrial and nuclear genetic diversity were lower for the gulf weakfish ($H = 0.688$; $\pi = 0.004$; $H_o = 0.737$) than for striped weakfish ($H = 0.986$; $\pi = 0.016$; $H_o = 0.766$). These values, together with the analysis of historical demography, place the gulf weakfish in a scenario characterized by a population bottleneck and the striped weakfish in a demographically stable scenario. Although today the capture of gulf weakfish is regulated by the National Fisheries Chart, management strategies do not consider as a multispecies fishery. The results obtained in this study indicate not only that about 30% of the gulf weakfish catch up to other species, but these species have different levels of genetic health and contrasting demographic histories. It is noteworthy that the genetic diversity of gulf weakfish is lower than that reported for totoaba (*Totoaba macdonaldi*; $H = 0.962$, $\pi = 0.013$; $H_o = 0.733$), a species considered in danger of extinction and that ban is permanent since 1975. All above aspects should be considered in the establishment of an appropriate management strategy to ensure, the sustainable use of these fisheries resources.

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ADNmt: ADN mitocondrial

ADNn: ADN nuclear

ADNt: ADN genómico o total.

AGC: Alto Golfo de California

ANP: Área Natural Protegida

BC: Baja California

Cit B: Citocromo B

COFEMER: Comisión Federal de Mejora Regulatoria

CONANP: Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas

COI: Citocromo oxidasa I

DOF: Diario Oficial de la Federación

FAO: Organización para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization)

FFE: Fundación Friedrich Ebert

FSCPP: Federación de Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera

GdC: Golfo de California

IAM: Mutación de Alelos Infinitos (Infinite Allele Mutation)

MSN: Red de la Mínima Dispersión (Minimum Spanning Net)

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa (Polymerase Chain Reaction)

RAMSAR: Convención sobre los Humedales de Importancia Internacional

RBAGCyDCR: Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado

RC: Región Control

SC: Santa Clara

SF: San Felipe

Son: Sonora

SMM: Modelo de Mutación por Pasos (Stepwise Mutation Model)

SSD: Sumatoria de las Diferencias Cuadradas (Sumatory of square differences)

WWF: Fondo Mundial para la Naturaleza (World Wildlife Fund)

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS	IV
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT	VII
SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	VIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1. Decreto de la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y delta del Río Colorado RBAGCyDRC	5
2.2. Delimitación de la reserva y planes de manejo.....	6
2.3. Problemática Ecológica, Social y Económica.....	8
2.4. Historia de la Pesca dentro de la Reserva.....	9
2.5. Corvina golfina (Cynoscion othonopterus)	10
2.5.1. Marco General.....	10
2.5.2. Biología de la Especie	11
2.5.3. Pesquería	13
2.6. Estudios Moleculares aplicados al manejo de pesquerías	14
3. HIPÓTESIS.....	18
4. OBJETIVOS	19
4.1. Objetivo General	19
4.2. Objetivos Particulares	19

5. ÁREA DE ESTUDIO	20
5.1. Características geográficas Golfo de California	20
5.2. Aspectos Climáticos y Geológicos del Golfo de California	22
5.3. Comunidades Pesqueras Muestreadas	22
5.3.1. San Felipe, Baja California	22
5.3.2. Golfo de Santa Clara, Sonora	22
6. METODOLOGÍA.....	23
6.1. Trabajo de Campo (Colecta de Muestras).....	23
6.1.1. Muestreo Prospectivo: Temporada de pesca del 2009	23
6.1.2. Muestreo Formal: Temporada de pesca del 2010.....	24
6.2. Trabajo de Laboratorio (Procesamiento de Muestras)	25
6.2.1. Clasificación Taxonómica.....	25
6.2.2. Extracción del ADN total (ADNt).....	25
6.2.3. ADN mitocondrial (ADNmt).....	26
6.2.3.1. <i>Amplificación parcial de la región control del ADNmt</i>	26
6.2.3.2. <i>Amplificación parcial del Citocromo B del ADNmt</i>	26
6.2.3.3. <i>Amplificación parcial del COI del ADNmt</i>	27
6.2.3.4. <i>Secuenciación de los amplicones del ADNmt</i>	29
6.2.4. ADN nuclear (ADNn)	29
6.2.4.1. <i>Amplificación de los loci de microsatélites</i>	29
6.2.4.2. <i>Análisis del genotipo multilocus del ADNn (PCR)</i>	31
6.3. Trabajo de Gabinete (Análisis estadístico).....	32
6.3.1. ADN mitocondrial (ADNmt).....	32
6.3.1.1. <i>Edición de las secuencias del ADNmt</i>	32
6.3.1.2. <i>Filogenia intraespecífica</i>	32
6.3.1.2. <i>Diversidad genética</i>	32
6.3.1.3. <i>Estructura genética</i>	33
6.3.1.4. <i>Historia demográfica</i>	34
6.3.2. ADN nuclear (ADNn)	35
6.3.2.1. <i>Lectura de Alelos del genotipo multilocus del ADNn</i>	35
6.3.2.2. <i>Diversidad genética</i>	36
6.3.2.3. <i>Estructura genética</i>	37
6.3.2.4. <i>Historia Demográfica</i>	38

7. RESULTADOS	39
7.1. Análisis Preliminares.....	39
7.1.1. Análisis Preliminares ADNmt.....	39
7.1.2. Análisis preliminares ADNn	43
7.2. Identificación.....	44
7.2.1. Identificación taxonómica con base en la morfometría.....	44
7.2.2. Identificación taxonómica a nivel molecular	47
7.3. Diversidad Genética	54
7.3.1. Diversidad genética del ADNmt.....	54
7.3.1.1. <i>Corvina Golfina (G03: Cynoscion othonopterus)</i>	54
7.3.1.2 <i>Corvina Rayada (G01: Cynoscion reticulatus)</i>	56
7.3.2. Diversidad Genética del ADNn.....	59
7.4. Estructura Genética.....	60
7.4.1. Estructura genética de la corvina golfina (G03: <i>Cynoscion othonopterus</i>): ADNmt.....	60
7.4.2. Estructura genética de la corvina golfina (G03: <i>Cynoscion othonopterus</i>): ADNn.....	61
7.5. Demografía Histórica.....	62
7.5.1. Demografía Histórica ADNmt	62
7.5.1.1. <i>Corvina Golfina (G03: Cynoscion othonopterus)</i>	62
7.5.1.2. <i>Corvina Rayada (G01: Cynoscion reticulatus)</i>	64
7.5.2. Demografía Histórica ADNn	69
8. DISCUSIÓN	70
8.1. Identificación del recurso (Caracterización Molecular).....	70
8.2. Diversidad Genética como herramienta para explorar la historia demográfica.....	74
8.3. Recomendaciones	85
9. CONCLUSIONES.....	89
10. REFERENCIAS	91

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área de estudio: Comunidades pesqueras de la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado (RBAGCyDRC).....	21
Figura 2. Árbol filogenético preliminar de las muestras de corvina ssp. del 2009, de las costas de la RBAGCyDRC.....	40
Figura 3. Árbol filogenético preliminar de las muestras de RC de corvina ssp. del 2009 y 2010, de las costas de la RBAGCyDRC.....	42
Figura 4. Asignación de poblaciones según el genotipo multilocus de las muestras corvina de las costas del AGC, Baja California, México.....	43
Figura 5. Organismos tipo con diferencias morfológicas aparentes, colectados durante el muestreo del 2010.....	46
Figura 6. Árbol filogenético preliminar de las secuencias de COI de las muestras de corvina de las costas de la RBAGCyDRC.....	48
Figura 7. Árbol filogenético preliminar de las secuencias de Cit B de las muestras de corvina de las costas de la RBAGCyDRC.....	49
Figura 8. Imágenes de las especies identificadas, tomadas del foro internacional de pesca realizado por la FAO.	51
Figura 9. Árbol filogenético linearizado de las secuencias de RC de las muestras corvina de las costas del AGC, Baja California, México.. ..	52
Figura 10. Árbol filogenético de las secuencias unidas (RC, Cit B y COI) de las muestras de corvina de las costas de la RBAGCyDRC.....	53
Figura 11. Distribución de diferencias pareadas observadas con las esperadas, bajo un escenario de expansión demográfica para A: Corvina golfina (G03: <i>Cynoscion othonopterus</i>) y B: Corvina rayada (G01: <i>Cynoscion reticulatus</i>).	65
Figura 12. Red de la mínima dispersión (MSN) para los linajes mitocondriales de corvina golfina (A) y rayada (B) de las costas del AGC (B.C.,México).....	66
Figura 13. Dispersión bidimensional de acuerdo a los valores canónicos generados en el análisis discriminante.. ..	68
Figura 14. Distribución de frecuencias de alelos del ADNn de la corvina golfina (<i>Cynoscion othonopterus</i>), corvina rayada (<i>Cynoscion reticulatus</i>) y totoaba (<i>Totoaba macdonaldi</i>) de las costas del AGC de Baja California (México).. ..	78
Figura 15. Captura de corvina golfina de las costas del AGC de Baja California (México) a través del tiempo.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 16. Distribución geográfica de la corvina golfina y la corvina rayada.....	81

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Concentración de los amortiguadores empleados para la amplificación de los diferentes regiones del ADN mitocondrial (ADNmt) analizadas en el presente trabajo.	28
Tabla II. <i>Loci</i> de microsatélites de <i>T. macdonaldi</i> y <i>C. acoupa</i> , utilizados para el análisis genético poblacional de <i>Cynoscion sp.</i> de la RBAGCyDRC.	30
Tabla III. Numero de especímenes de corvina recolectados en las costas del AGC durante las temporadas de pesca del 2009 y 2010.....	41
Tabla IV. Resumen de la asignación de poblaciones por microsatélite.....	44
Tabla V. Identificación de los diferentes especímenes muestreados en San Felipe (SF).....	51
Tabla VI. Secuencia nucleotídica de la porción de la región control mitocondrial de la corvina G03..	54
Tabla VII. Sitios variables y frecuencia relativa de los haplotipos mitocondriales de la corvina G03 observados para la costas del AGC de Baja California, México.	55
Tabla VIII. Secuencia nucleotídica de la porción de la región control mitocondrial de la corvina G01..	56
Tabla IX. Sitios variables y frecuencia relativa de los haplotipos mitocondriales de la corvina G01 observados para las costas del AGC de Baja California, México.	57
Tabla X. Polimorfismo de la región control mitocondrial y diversidad genética de la corvina de la RBAGCyDRC.	58
Tabla XI. Polimorfismo del genotipo multilocus del ADNn y diversidad genética de la corvina de la RBAGCyDRC.	59
Tabla XII. Estadísticos descriptivos para cada una de las dos localidades analizadas para determinar la diversidad genética de corvina golfina (G03: <i>Cynoscion othonopterus</i>) de las muestras de la RBAGCyDR de Baja California, México.....	61
Tabla XIII. Valores de SSD y del índice <i>D</i> de Tajima para las muestras de corvina golfina de las costas del AGC, México.	63
Tabla XIV. Historias demográficas inferidas a partir de los valores de diversidad genética en poblaciones de peces..	67
Tabla XV. Matriz de clasificación del análisis discriminante para valores de diversidad genética en diversas especies de peces marinos.	68
Tabla XVI. Pruebas Estadísticas para las modelaciones de demografía histórica en el supuesto de equilibrio mutación-deriva, de las poblaciones de sciánidos del AGC, B.C, México..	69

LISTA DE ANEXOS

Anexo I. Extracción y purificación de ADN.....	98
Anexo II. Secuenciación del ADNmt	100
Anexo III. Amplificación de Microsatélites.....	101
Anexo IV. Diversidad genética y valores de las raíces canónicas del análisis discriminante para los grupos propuestos por Grant y Bowen (1998).....	103

1. INTRODUCCIÓN

Los océanos constituyen el almacén más grande de organismos en la tierra que sirven como fuente de recursos alimenticios y económicos para el hombre. Si bien, la actividad pesquera ha incentivado la economía y contribuido a la construcción social de diferentes regiones, la sobreexplotación de los recursos ha generado situaciones adversas dentro de los ecosistemas (Ruiz, 2009).

De acuerdo con Harvey (2001), alrededor del 44% de las pesquerías marinas a nivel mundial se encuentran sobre-explotadas. Esto es en parte, porque la administración de pesquerías por sí sola es una tarea difícil (Castro, 2004), ya que para lograr un ordenamiento adecuado, las autoridades responsables del cuidado del medio ambiente se ven en la necesidad de determinar cuales instrumentos de la política pesquera son más viables, de tal forma que se satisfagan los criterios biológicos, ecológicos y los posibles impactos bioeconómicos resultantes de las estrategias de manejo integral sostenible de los recursos pesqueros (Quiroz *et al.*, 2008).

Aunado a lo anterior, para la mayoría de los recursos pesqueros no existe suficiente información que permita la creación de estrategias adecuadas de explotación (Craig *et al.*, 2004) o bien, la reestructuración de los escasos reglamentos de pesca existentes. Por desgracia, la falta de información en cualquiera de los ámbitos biológicos, ecológicos o socioeconómicos, limita en gran medida el aprovechamiento sustentable y puede acelerar el proceso de declinación de los recursos naturales (Mustafa, 1999).

El Golfo de California (GdC en lo sucesivo) posee una amplia variedad de ecosistemas marinos y costeros que lo convierten en un punto focal para la biodiversidad marina tropical (Roberts *et al.*, 2002).

Además, el GdC es considerado como uno de los sistemas de agua más productivos del mundo (DOF, 2007); esto se refleja, en el hecho de que la actividad pesquera sea una de las actividades económicas más importantes y de mayor tradición en la zona (Humedales RAMSAR, 2001).

Una zona de especial dinamismo es la región norte del GdC, conocida como el Alto Golfo de California (AGC en lo sucesivo), en donde existe una gran diversidad de especies con alto valor económico, así como con un elevado número de endemismos (Quiroz *et al.*, 2008). El AGC representa un cuerpo de agua de gran importancia para la economía de importación y exportación de productos pesqueros de México y es considerado como la región más productiva, ya que las actividades de acuacultura y pesca aportan el 71.16% del volumen de la producción pesquera nacional y el 56.85% del valor de la misma, arrojando en su totalidad una derrama económica del 60% dentro del sector pesquero a nivel nacional (Castro, 2004).

Desde un punto de vista administrativo, la actividad pesquera en el AGC ha sido particularmente problemática ya que, al tener una amplia dispersión espacial y una marcada disparidad social (Doode y Wong, 2001), se genera un conflicto permanente en torno al aprovechamiento de los recursos y en especial respecto a los efectos que la sobrepesca tiene sobre las especies de valor económico y/o ecológico (Quiroz *et al.*, 2008).

Por su parte, cambios ecológicos que ha sufrido el AGC por la reducción del flujo de agua dulce por el Río Colorado, la contaminación costera y la eutrofización por residuos de la agricultura, maricultura y asentamientos

urbanos (Arias Patrón, 2005), han deteriorado el hábitat de numerosas especies y han puesto en riesgo de extinción regional a al menos seis especies de peces de las familias Serranidae y Scianidae (Musick *et al.*, 2000).

Por la razones anteriormente descritas, estudiar la actividad pesquera en el AGC resulta un ejercicio complejo en el que coinciden un conjunto de problemas socioeconómicos y ambientales, donde destaca el vínculo entre la rentabilidad de las pesquerías explotadas y su impacto sobre la sustentabilidad (Cisneros, 2001).

Históricamente, uno de los principales recursos de escama de mayor importancia para las comunidades del AGC, ha sido la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*). Inicialmente, esta especie era capturada incidentalmente dentro de la pesquería de totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Por razones desconocidas la corvina golfina dejó de observarse a inicios de los años 60's, llegando incluso a considerarse comercialmente extinta (Román, 2000). No obstante, la especie reapareció en las capturas a inicios de los 90's, convirtiéndose en la pesquería de escama de mayor importancia dentro de la Reserva del AGC (Martínez *et al.*, 2009).

A pesar de que en la actualidad la pesquería de corvina golfina representa el principal ingreso económico para la región (Martínez *et al.*, 2009) gracias a su abundancia y a su gran aceptación por los consumidores, se han reportado daños en la población asociados al incremento en la actividad pesquera de las últimas décadas, que podrían estar afectando a la especie (WWF, 2004).

Si bien esta pesquería se encuentra regulada por la Carta Nacional Pesquera, para plantear estrategias adecuadas de uso comercial es necesaria

una evaluación más detallada que nos permita conocer el estado actual de la población y su potencial de explotación.

Estudios basados en la estructura de tallas y edades de la captura de corvina golfina, han permitido obtener información sobre la dinámica de la población (Román, 2000), sin embargo, se desconocen aspectos básicos sobre la demografía y salud genética poblacional.

Recientemente, se ha incrementado el interés por utilizar marcadores moleculares como una herramienta para el desarrollo de estrategias de gestión y preservación de las poblaciones de pesquerías (López *et al.*, 2010), ya que los datos moleculares representan una alternativa que puede aportar información a más corto plazo.

En los últimos años, diferentes técnicas moleculares utilizando ADN nuclear (ADNn) o ADN mitocondrial (ADNmt), han proporcionado información sobre la variabilidad genética y el tamaño efectivo de poblaciones, demostrando ser eficaces al aportar una perspectiva evolutiva para la conservación (Santos *et al.*, 2006).

Por lo anterior, el objetivo principal del presente trabajo consiste en aportar un análisis de genética poblacional de la pesquería de corvina golfina del AGC, utilizando el ADNmt y ADNn como marcadores moleculares.

La información obtenida de este análisis nos permitirá complementar la información biológica existente, parámetro clave y necesario que requiere ser integrado con conocimientos ecológicos, socioeconómicos y políticos (Castro, 2004) para lograr un ordenamiento adecuado y un manejo sustentable del recurso, que eleve la calidad de vida de los pescadores y permita, a su vez, la recuperación de la población de corvina.

2. ANTECEDENTES

2.1. Decreto de la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y delta del Río Colorado RBAGCyDRC

La pesca es la actividad de mayor importancia económica y social en el AGC, donde la explotación de recursos pesqueros de gran valor económico como el camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*) y corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) han contribuido a la construcción social del AGC (Ruiz, 2009).

Desafortunadamente, hubo un incremento histórico considerable en el esfuerzo pesquero, lo que ocasionó por una parte, la captura incidental de especies no objetivo de gran interés ecológico y comercial (Delgado-Estrella *et al.*, 1994) como la vaquita marina (*Phocoena sinus*) y la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) respectivamente; y por otro lado, una sobreexplotación de los recursos pesqueros. Esto a su vez, generó efectos negativos y un desequilibrio dentro del ecosistema marino (Ruiz, 2009).

Por estas razones, la región del Alto Golfo de California y el delta del Río Colorado fue decretada por la Secretaría de Desarrollo Social, como Reserva de la Biosfera el 10 de junio de 1993. En junio de 1996 se presentó el programa de manejo del área natural protegida y se declara como ANP con carácter de Reserva de la Biosfera (CONANP, 2004). Con este decreto, se pretendía incrementar el nivel de vida de los habitantes de la Reserva y garantizar un aprovechamiento adecuado y sustentable de los recursos naturales considerando las características físicas, biológicas y socioeconómicas y las actividades que en ella se desarrollan dentro (Quiroz *et al.*, 2008).

2.2. Delimitación de la reserva y planes de manejo

Las reservas de la biósfera son instrumentos de manejo de los recursos naturales cuya utilización adquiere especial importancia por ser una herramienta que posibilita incorporar un enfoque de ecosistema y sustentabilidad en el aprovechamiento de los recursos marinos (Encinas, 2008).

La superficie total del decretado de RBAGCyDRC, representa más del 70% a aguas marinas y costeras (WWF *et al.*, 2005), por lo que el programa y las acciones administrativas, son preponderantemente pesqueras (CONANP, 2004).

En general, el programa de manejo enfatiza la preservación de la biodiversidad, procurando la sustentabilidad y conservación del Golfo de California con una pesca responsable de aquellas especies de interés comercial por parte de los pescadores de esa región (Cudney y Turk, 1998). También, busca ir más allá atendiendo a la problemática social propia de comunidades pesqueras ubicadas dentro del ANP, explorando alternativas productivas que compensen la regulación de la pesca (FFE, 1996).

Se utilizó la subzonificación como herramienta administrativa, ya que permite determinar las actividades que se pueden desarrollar en las diferentes zonas, atendiendo a las características particulares de cada una, acorde con las necesidades de protección, lo que hace compatible el uso de los recursos con la conservación (CONANP, 2004).

Se establecieron principalmente dos zonas de manejo, conforme a los criterios de zonificación y lo establecido en el Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en materia de Áreas Naturales Protegidas:

I. Zona núcleo: Denominada “Delta del Río Colorado”, es una zona que aloja fenómenos naturales de especial importancia como sitios de reproducción, desove, crianza y alimentación de especies marinas y procesos ecológicos relevantes (Humedales RAMSAR, 2001). Esta zona, tiene como principal objetivo la preservación de los ecosistemas a mediano y largo plazo, y está conformada por sub-zonas de protección y de uso restringido (FSCPP, 2009).

II. Zona de Amortiguamiento: Tiene como función principal orientar a las comunidades en las actividades de aprovechamiento que ahí se lleven a cabo, para que se conduzcan hacia el desarrollo sustentable, creando al mismo tiempo las condiciones necesarias para lograr la conservación de los ecosistemas a largo plazo. Está conformada por las siguientes subzonas: de uso tradicional, de aprovechamiento sustentable de los recursos naturales, de aprovechamiento sustentable de agroecosistemas, de aprovechamiento especial, de uso público, de asentamientos humanos, y de recuperación (FSCPP, 2009).

No obstante es necesario mencionar, que ya se ha documentado que el tener diferentes políticas de manejo aunado a la ausencia de información de la ecología de poblaciones y del ecosistema, puede ser un obstáculo para generar una gestión integral en las pesquerías de la zona (Puchnick-Legat *et al.*, 2006). Además, el emplear estrategias y acciones de protección para mejorar y conservar los recursos naturales sin el debido respaldo científico, comúnmente no soluciona el problema inicial (Povh *et al.*, 2008).

2.3. Problemática Ecológica, Social y Económica.

Con la declaración de la Reserva como área natural protegida, las comunidades de San Felipe en Baja California, Puerto Peñasco y Golfo de Santa Clara en Sonora quedaron incluidas en un polígono geográfico considerado como área bajo protección (Quiroz *et al.*, 2008).

Aunque existe una gran gama de actividades económicas, dadas las características físicas y climáticas de la región costera del Alto Golfo, la población del sector primario se dedica primordialmente a las actividades pesqueras (Humedales RAMSAR, 2001), por lo que existe una alta dependencia económica de estas tres comunidades sobre los recursos de la Reserva (Quiroz *et al.*, 2008).

Tras la declaración de la zona como ANP, se preveía una mejora en las condiciones de vida de la población de estas tres comunidades. Específicamente, se esperaba que los cambios se reflejaran en el tamaño y variedad en las pesquerías y por tanto, de los organismos capturados, provocando efectos directos en los ingresos de los pescadores (Quiroz *et al.*, 2008). Sin embargo, aun existen problemas socioeconómicos y ambientales no resueltos que impiden la rentabilidad de las pesquerías explotadas comercialmente por estas comunidades (Castro, 2004).

Por la parte ecológica y ambiental, existen tres principales problemas que han alterado la vegetación de los humedales que formaban parte del delta y han modificado las aguas superficiales y el manto acuífero (Cisneros, 1995):

- La disminución de la calidad y la cantidad de agua dulce hacia el cauce principal del Río Colorado y zona deltaica de las aguas del Alto Golfo, alterando diferentes procesos biológicos.

- Fuentes de contaminación por descargas de aguas agrícolas residuales, descargas de combustibles de las embarcaciones menores y mayores, disposición inadecuada de residuos sólidos y la falta de drenaje en los poblados.
- El crecimiento excesivo de la población y aumento de la afluencia turística no controlada, que excede la infraestructura y servicios de la zona.

Los principales problemas socioeconómicos, son referentes a la pesca y están relacionados con los temas de competencia por recursos entre los pescadores industriales y los ribereños e inclusive entre los mismos pescadores ribereños, lo cual genera un conflicto interno entre las distintas sociedades (Cisneros, 2001).

2.4. Historia de la Pesca dentro de la Reserva

La actividad pesquera esta documentada desde principios del siglo XX. Inicialmente, la especie de interés comercial dentro de la explotación de los recursos pesqueros en el AGC, fue la totoaba (*Totoaba macdonaldi*). En la década de 1940 las capturas de totoaba disminuyeron drásticamente (Cisneros *et al.*, 1995).

Mientras esto pasaba, la pesca de camarón pasó a ser, desde 1930, la principal fuente de ingresos de la actividad pesquera. Sin embargo, en la década de los ochenta del siglo pasado se registró un colapso económico de la pesca camaronera lo cual generó una crisis en la que quebró la mayoría de las cooperativas camaroneras que operaban con barcos industriales (WWF, 2004).

El auge de la pesca ribereña surgió a partir de esta crisis que provocó una diversificación del esfuerzo pesquero, sobre todo en las comunidades de San Felipe y del Golfo de Santa Clara, en donde las que especies no aprovechadas anteriormente se comenzaron a explotar (WWF, 2005).

Hasta la fecha, la corvina golfina es un pilar importante de la economía no solo de esta región (AGC) sino de todo el Golfo (DOF, 2007). A pesar de que no existen estimaciones del esfuerzo pesquero ribereño hasta 2004 (WWF, 2004), entre 1998 y la actualidad, se advierte un incremento sistemático en el número de pangas dentro la reserva que se ve reflejado en el decremento de los volúmenes de corvina capturados en los últimos años (CONANP, 2004).

Tomando en cuenta que 82% de las pesquerías nacionales explotan a su máximo sostenible o sobreexplotan a las especies objetivo (Hernández *et al.*, 2003) y que oficialmente se ha reconocido que 75% de los recursos pesqueros de México están sobreexplotados (WWF, 2004), es necesario contar con una evaluación del estado actual de la corvina golfina, para lograr un aprovechamiento sustentable del recurso.

2.5. Corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*)

2.5.1. Marco General

La familia Sciaenidae comprende 70 géneros y 270 especies de peces demersales principalmente marinos y de estuario, que en general viven en ambientes someros de la plataforma continental, aunque algunos se encuentran en aguas profundas del océano (Farias *et al.*, 2006). Se distribuyen ampliamente en todas las zonas tropicales y subtropicales de los océanos Atlántico, Índico y Pacífico (Nelson, 1994).

Dentro de la familia Sciaenidae, *Cynoscion* es uno de los géneros más importantes tanto ecológica como económicamente hablando (Vergara *et al.*, 2009), pues la mayoría de las especies de este grupo representan recursos pesqueros con un alto valor comercial.

Así, las especies de este género, son objeto de una pesca intensiva a lo largo de sus áreas de distribución, e inclusive se cree que algunas de estas especies han sido sobreexplotadas, ya que, en las últimas décadas se ha reportado un decremento dramático en el número de las poblaciones (CONANP, 2004). Esto generó por un lado distintas limitaciones en la pesquería y por otro, demandó nuevas medidas de gestión para restablecer niveles sostenibles de las poblaciones (WWF, 2004).

El género *Cynoscion* incluye 26 especies, de las cuales 24 son conocidas como corvinas (Vergara, 2009). La corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*), es una de las especies endémicas del AGC, con gran valor como fuente alimenticia para el humano, por lo que es activamente explotada en todo su rango (Chao, 2002).

2.5.2. Biología de la Especie

La corvina golfina fue descrita por Jordan y Gilbert en 1882, de especímenes colectados en San Felipe, B.C. Las características físicas de la especie de acuerdo a Chao (1995) son: Cuerpo alargado relativamente esbelto, perfil de nuca recto, boca grande y oblicua, la mandíbula inferior prominente, mentón sin poros ni barbillas, dientes aguzados dispuestos en una o dos series con un par de dientes caniniformes en el extremo de la mandíbula superior; de coloración dorso azul metálico y vientre plateado, la mitad superior del cuerpo con estrías oscuras, axilas pectorales grisáceas, parte distal de las aletas oscuras, aletas pélvicas y anal amarillas.

No existe un dimorfismo sexual evidente pero en etapas avanzadas de maduración de las gónadas, el vientre de las hembras es muy abultado. La proporción de sexos es 1:1 en casi todo el año, a excepción de la temporada reproductiva en donde hay un incremento en el número de hembras. Se describe como una especie con una talla máxima de 92 cm., en donde las tallas comerciales fluctúan entre 35 y 90 cm.

Las características distintivas de la especie de acuerdo a Chao (1995) son: aleta dorsal con X u XI (IX-X+1) espinas y 23 a 27 radios blandos, aleta anal con 11 espinas y 10 u 11 radios, aletas pectorales con 16 o 17 radios, alcanzando los extremos de las pélvicas, aleta caudal truncada a levemente marginada, vejiga con un par de apéndices anteriores en forma de cuernos.

Es endémica del Golfo de California, cuya distribución descrita por Chao en 1995 es desde la Región de La Paz. B.C.S. y el sur de Sonora hasta el Delta del Río Colorado, pero registros confirmados posteriormente son desde el delta del Río Colorado hasta Puerto Peñasco en Sonora y las Islas Encantadas en Baja California (Román, 2000).

Realiza una migración anual al Alto Golfo que aparentemente inicia durante el mes de octubre y se extiende hasta mayo. Su longevidad máxima es de 9 años y alcanza su madurez sexual alrededor de los 2 y 3 años de vida (~40 cm). La reproducción se da en los meses de abril y mayo, presentando una fecundidad por único desove de 249,556 a 808,166 ovocitos en hembras de longitudes patrón de 60 a 72 cm (Román, *op cit.*). Se alimenta principalmente de sardina bocona *C. mysticetus* (96%) y al parecer no tiene competidores alimenticios.

2.5.3. Pesquería

Debido a su popularidad tanto en el mercado externo como en el interno, la corvina golfina se convirtió en la segunda pesquería de mayor captura en la Reserva (Martínez *et al.*, 2009) y es considerada como uno de los recursos pesqueros más importantes a lo largo de las costas del Alto Golfo (Chao, 2002).

Las capturas se realizan entre febrero y mayo, teniendo las abundancias más altas en los meses de marzo y abril (SAGARPA, 2005). La principal concentración de la corvina golfina ocurre en la zona núcleo de de la Reserva y en el cauce del Río Colorado, donde los pescadores recurrentemente tienden sus redes de enmalle ocasionando con ello una violación a la legislación ambiental, pues la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente lo prohíbe, generando impactos ambientales en el lugar y afectando el ciclo reproductivo de la especie. Por ello, se han generado distintos operativos de protección y vigilancia (Martínez *et al.*, 2009).

Hoy en día, la corvina golfina está considerada en listados de especies que requieren protección especial (SAGARPA, 2005) y al igual que otros scianidos del AG se encuentran reguladas por la carta nacional pesquera. Además *Cynoscion othonopterus*, también esta protegida por la Norma Oficial Mexicana (NOM-063-PESC-2005), que promueve una pesca responsable dentro de las aguas de jurisdicción federal del AGCyDRC (SEMARNAT, 2011).

Siguiendo esta normatividad, la captura de corvina se realiza bajo amparos de permisos de escama por grupos de pesca artesanal de tres localidades: San Felipe, B.C., El bajo Río Colorado (comunidad Cucapah del delta), y del Golfo de Santa Clara, Son. (SAGARPA, 2005).

A pesar de los esfuerzos por proteger a la especie y de su importancia ecológica y económica, debido a su confinada distribución, vulnerabilidad del hábitat y por la pérdida del hábitat utilizado en la época reproductiva, se ha registrado una reducción del stock de la población de *C. othonopterus* (Quiroz *et al.*, 2008).

Esta reducción se refleja en la disminución de la talla promedio y en la captura por unidad de esfuerzo, así como, en la tendencia de los pescadores ribereños a utilizar chinchorros de línea con tamaño de malla más chica (5" en lugar de 6"); situación que puede convertirse en un ejemplo clásico del agotamiento de un recurso (Quiroz *et al.*, 2008).

Dada la importancia de esta pesquería y la continuidad de la extracción de los recursos, es importante investigar a fondo, la ecología de la especie, su historia pesquera y relacionarla con datos genéticos moleculares para obtener una evaluación aproximada de los niveles de abundancia del recurso y de la identidad genética de los mismos. Existen estudios de ecología de corvina golfina, pero desafortunadamente la información de genética molecular de la población es muy limitada.

2.6. Estudios Moleculares aplicados al manejo de pesquerías

En genética un marcador molecular o marcador genético, es un fragmento conocido de la secuencia de ADN que se asocia a una parte específica del genoma, utilizada en biología molecular para identificar una secuencia particular de ADN de interés (Povh *et al.*, 2008).

Marcadores genéticos como secuencias de ADN nuclear y mitocondrial puede ser utilizadas para estimar muchos parámetros de interés para los ecólogos de poblaciones, tales como las tasas de migración, tamaño de la

población, los cuellos de botella, el parentesco (Selkoe y Toonen, 2006) niveles de diversidad genética, comportamiento reproductivo, migración, demografía y estructura poblacional (Hoelzel, 1992).

El ADN mitocondrial es el material genético de las mitocondrias de organismos eucariotas. Es una molécula circular que se desarrolla rápidamente, por lo que es utilizada eficazmente como herramienta para la recopilación de información en análisis de genética poblacional. Esto, pues además de ser de fácil extracción y amplificación, tiene características únicas dada su transmisión vía materna, como el rápido ritmo de cambios evolutivos, la transmisión sin recombinación y la herencia haploide (Awise, 1994). Por lo tanto, las variaciones en el ADNmt han sido de gran utilidad como línea de base para la gestión de las poblaciones de especies de peces (Martins *et al.*, 2003).

Por su parte, el ADN nuclear es el material genético contenido en el núcleo de todos los seres vivos. A diferencia del ADNmt, este se compone de la información heredada de ambos padres, en lugar de ser por vía materna únicamente (Povh *et al.*, 2008). Por ello, a diferencia del ADNmt, que es una réplica exacta del ADN de la madre del individuo, ADNn no ofrece un perfil genético que establezca un vínculo directo entre un espécimen y sus progenitores. Esto hace del ADNn una herramienta menos clara en el establecimiento de las relaciones filogenéticas. No obstante, uno de los marcadores moleculares más utilizados en la genética poblacional para la evaluación de temas ecológicos, son los microsatélites (Aranguren *et al.*, 2005).

Los microsatélites son repeticiones en tándem de 1-6 nucleótidos encontrados con alta frecuencia en el genoma nuclear de la mayoría de los taxones eucariontes (Povh *et al.*, 2008).

Se consideran herramientas genéticas ideales debido a su alto nivel de polimorfismo, a que presentan herencia mendeliana simple y codominante (diferenciando individuos homocigotos y heterocigotos), a que fáciles de medir y analizar, fiables, reproducibles, automatizables y poseen un alto poder resolutivo a nivel individual que resulta ideal para estudios genéticos poblacionales (Goldstein y Schlötterer, 1999).

Por ello, se han convertido en el tipo de marcador más popular y versátil, pues les permite a los investigadores conocer cuestiones de la ecología de poblaciones a fina escala (Selkoe y Toonen, 2006).

Finalmente, tanto el ADNmt como los microsatélites han sido la principal herramienta para muchos estudios concernientes a genética de poblaciones, pues al ser marcadores neutrales permiten las estimaciones de parámetros poblacionales que no se ven afectados por la selección (Chapman *et al.*, 2002).

Los marcadores genéticos son instrumentos importantes para el estudio de poblaciones y lotes de peces. El desarrollo de metodologías moleculares ha permitido el análisis del genoma y de las variaciones existentes, tanto en regiones que codifican productos génicos, como en aquellas cuyas funciones aún permanecen desconocidas (Regitano, 2001).

Existen estudios de corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) basados en la estructura de tallas y edades de las capturas de corvina, que han proporcionado información básica sobre su demografía y dinámica poblacional. No obstante, se desconocen los niveles de diversidad y estructura genética, aspectos relevantes que nos permiten hacer una evaluación de la salud genética e historia demográfica y que deben tomarse en cuenta al plantear estrategias de manejo para especies explotadas comercialmente.

Por ello, identificamos que sería necesario realizar estudios a nivel de genética para incluir mejoras en la gestión del recurso.

3. HIPÓTESIS

Debido a que en la pesca histórica comercial de la corvina golfina se registra la desaparición de la especie durante 30 - 40 años, se espera encontrar baja diversidad genética molecular y evidencia de al menos un evento de cuello de botella en la abundancia histórica poblacional del recurso.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- ❖ A través del polimorfismo en la secuencia de la Región Control del ADN mitocondrial y del genotipo multilocus del ADN nuclear, determinar la identidad y diversidad genética molecular de la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*.) en la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado, México (RBAGCyDRC).

4.2. Objetivos Particulares

- Estimar los niveles de diversidad haplotípica y nucleotídica de la región control del ADN mitocondrial de la corvina golfina en la RBAGCyDRC.
- Estimar los niveles de diversidad genética (heterocigosidad) con base en el genotipo multilocus (microsatélites) de la corvina golfina en la RBAGCyDRC
- Determinar si la población silvestre de corvina golfina de la RBAGCyDRC esta genéticamente estructurada.
- Plantear un escenario plausible sobre la historia demográfica de la corvina golfina.

5. ÁREA DE ESTUDIO

5.1. Características geográficas Golfo de California

El Golfo de California ($\approx 800,000 \text{ km}^2$) se encuentra entre la región noroccidental del macizo de la República Mexicana y la península de Baja California. Es un cuerpo de agua que abarca los márgenes del estado de Sonora y Sinaloa en la región oriental y los estados de Baja California y Baja California Sur, por la parte occidental (Morgan *et al.*, 2005).

Este volumen de agua puede dividirse en tres regiones: a) La región sureña, con una gran cantidad de esteros y bahías que sirven como refugio de pelágicos menores; b) La región media de las grandes islas del Golfo, con más de 100 islas importantes que son zonas de grandes surgencias para la comunidad de peces pelágicos; y c) El Alto Golfo y Delta del Río Colorado, con unas extensas planicies mareales y humedales que sirven como sitio de reproducción y desove de una gran variedad de especies de peces de importancia comercial (Castro, 2004).

La región del Alto Golfo de California y el delta del Río Colorado fue decretada como Reserva de la Biosfera dentro de la modalidad ANP (RBAGCyDRC). El Alto Golfo de California (AGC) comprende la porción norte de Baja California y noroeste de Sonora, entre los $31^{\circ}00'$ - $32^{\circ}10'$ Norte y $113^{\circ}30'$ - $115^{\circ}15'$ Oeste, con una extensión de 934,756 hectáreas.

El área en la que se enfoca este estudio, corresponde a dos comunidades pesqueras muy importantes dentro del AGC, que son Santa Clara en el estado de Sonora y San Felipe en Baja California.

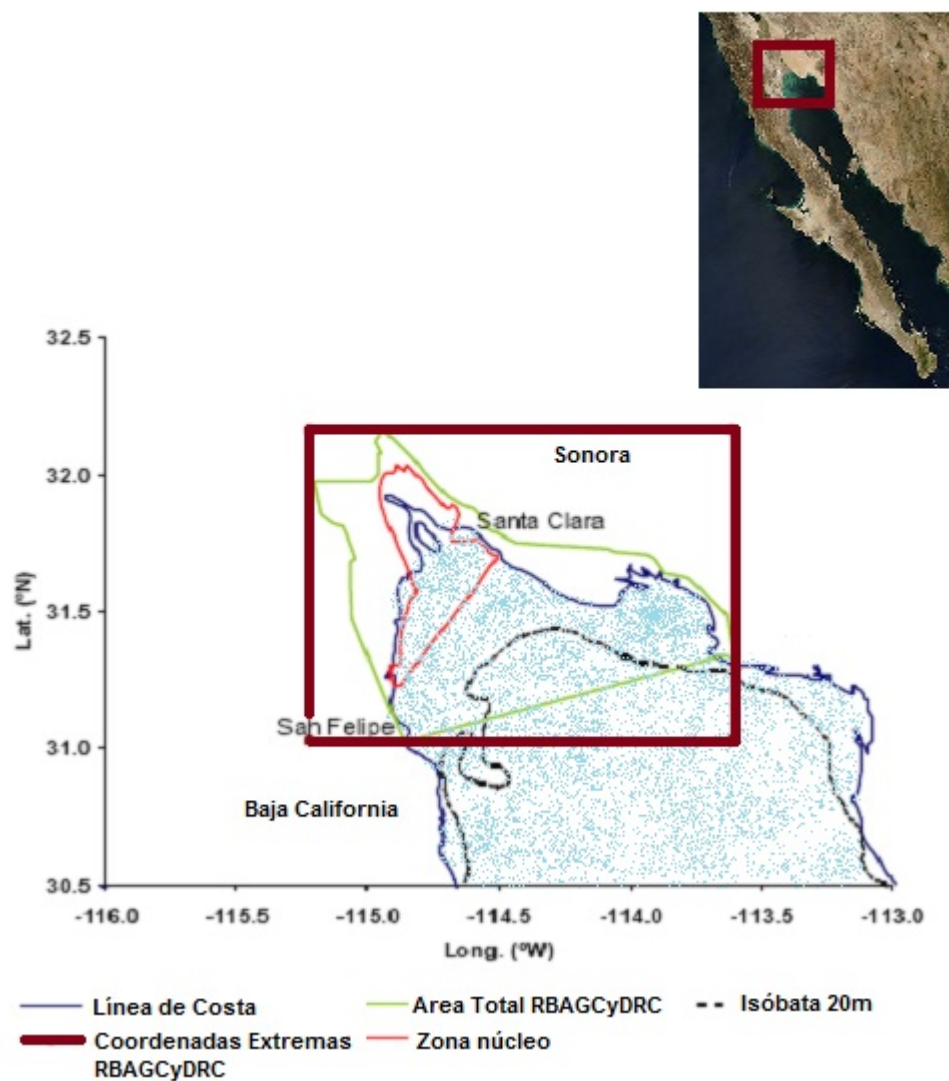


Figura 1. Área de estudio: Comunidades pesqueras de la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado (RBAGCyDRC). La localidad 1, es representativa de la pesquería de corvina en el estado de Baja California e incluye muestras de San Felipe, BC. La localidad 2, es representativa de la pesquería de corvina en el estado de Sonora e incluye muestras del Golfo de Santa Clara. **NOTA:** Tomado y modificado de WWF (2006).

5.2. Aspectos Climáticos y Geológicos del Golfo de California

El clima es del tipo muy seco (bw) con temperaturas medias de 18 ° a 20 °C y oscilaciones anuales de temperatura mayores de 14 °C. La parte marina de la reserva presenta un clima más continental que oceánico; se presentan dos estaciones, la fría en los meses de noviembre a mayo y la cálida en los meses de junio a octubre (Mosiño y García, 1974), ambas con periodos de lluvia (Lavín y Organista, 1988). El fondo marino es mucho más plano y somero (200 m de profundidad en promedio) en comparación con la parte terrestre y está influenciado por los depósitos del río Colorado (Álvarez Borrego *et al.*, 1977).

5.3. Comunidades Pesqueras Muestreadas

5.3.1. San Felipe, Baja California: Esta situado en el Municipio de Mexicali del Estado de Baja California México en las coordenadas 31°01'39" Norte y los 114°50'07" Oeste. La jurisdicción de administración pesquera a la que los pescaderos de San Felipe, B.C. responden, abarcan la porción del cauce principal del Río Colorado que corresponde a la Zona de Amortiguamiento (cerca de 20 km) y el litoral desde el límite de la Zona Núcleo hacia el sur hasta la zona de la Bahía San Luis Gonzaga.

5.3.2. Golfo de Santa Clara, Sonora: Se localiza en el Municipio de San Luis Río Colorado del Estado de Sonora México en las coordenadas 31°41'12" Norte y los 114°29'59" Oeste. La jurisdicción de administración pesquera a la que responden los pescadores del Golfo de Santa Clara, abarca desde los límites de Baja California y Sonora en el Río Colorado hasta el sitio conocido como Punta Borrascosa.

6. METODOLOGÍA

6.1. Trabajo de Campo (Colecta de Muestras)

El trabajo de Campo se realizó en dos etapas, inicialmente se realizó un muestreo prospectivo durante la temporada de pesca del 2009 y posteriormente se realizó un muestreo formal durante la temporada de pesca del 2010.

6.1.1. Muestreo Prospectivo: Temporada de pesca del 2009

El trabajo de campo fue realizado por el Programa Nacional de Observadores de Pesca, durante la temporada de pesca de corvina golfina entre febrero y marzo del año 2009. El personal de este programa, obtuvo alrededor de 30 muestras de la captura comercial de los desembarques en San Felipe, B.C., y otras 30 en Santa Clara, Son., México.

Se cortaron entre 1 y 5 g de tejido muscular de los especímenes obtenidos de las congeladoras de las cooperativas. El tejido de cada individuo se colocó en una bolsa de plástico de cierre hermético debidamente etiquetada, con etanol (ETOH 99%). Finalmente las muestras fueron almacenadas y preservadas a -20°C en el laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) - Unidad Ensenada hasta su procesamiento.

Se amplificó la región control (RC) del ADNmt y se construyó un árbol filogenético con las secuencias obtenidas, que mostró más de un clado de los especímenes obtenidos como procedentes de una pretendida pesquería monoespecífica, con valores de bootstrap mayores a 95%.

Con base a estos resultados se estableció un segundo muestreo, que se complementaría con especímenes completos y registros fotográficos, que nos permitieran hacer una clasificación taxonómica para corroborar la presencia de más especies en la muestra. Este se realizó durante la temporada de pesca de corvina golfina en marzo del año del 2010.

6.1.2. Muestreo Formal: Temporada de pesca del 2010

En esta temporada el trabajo de campo se realizó por miembros de la Universidad Autónoma de Baja California.

Las muestras se obtuvieron de los abastecimientos locales “SCPP Felipe Angeles SCL” de San Felipe, BC y “SCPP Playa Curvina” de Santa Clara, Son, México.

Para esta temporada, se llevó un registro fotográfico de cada ejemplar muestreado y adicionalmente al menos un organismo completo para posteriormente realizar una identificación taxonómica basada en los caracteres morfológicos de las diferentes corvinas encontradas en la pesquería.

Se disectó una pequeña porción de tejido del pedúnculo caudal de cada espécimen y el tejido de cada individuo se colocó en un tubo eppendorf estéril con etanol (ETOH 99%) etiquetado según el ejemplar.

Las muestras fueron almacenadas y preservadas a -20°C en el laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) - Unidad Ensenada hasta su procesamiento.

6.2. Trabajo de Laboratorio (Procesamiento de Muestras)

6.2.1. Clasificación Taxonómica

Para la identificación taxonómica de los ejemplares muestreados, se hizo un análisis de los caracteres diagnósticos en los organismos completos y se utilizó como apoyo las imágenes del registro fotográfico. Se utilizaron las guías o claves dicotómicas de clasificación de peces de la FAO (1995), para la identificación de las especies.

6.2.2. Extracción del ADN total (ADNt)

La extracción del ADN geonómico total (ADNt) se realizó utilizando un método descrito por Wasko y colaboradores en (2003) con algunas modificaciones (Anexo I). Se cortaron de 20 a 30 mg de tejido de cada muestra sobre un portaobjetos con ayuda de una navaja de bisturí previamente esterilizada, transfiriéndose posteriormente a un tubo para hacer la homogenización con un pistilo de polietileno.

La evaluación cualitativa de la integridad del ADN extraído se llevó a cabo mediante electroforesis, utilizando geles de agarosa al 1.5% con una concentración de 0.5 μg de bromuro de etidio por mililitro de gel (Agarosa_{EtBr} 1.5%). Se colocaron 5 μl del producto de la extracción de ADN en los pozos del gel y se corrieron durante 30 min a 80 V, visualizando el rendimiento de la extracción en una mesa de luz UV.

La evaluación cuantitativa de ADN se efectuó en un espectrofotómetro NanoDrop™ 1000 (Thermo Scientific).

6.2.3. ADN mitocondrial (ADNmt)

6.2.3.1. Amplificación parcial de la región control del ADNmt

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

La amplificación se realizó en un termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient. El perfil del termociclador consistió de un primer ciclo de precalentamiento de 4 minutos a 94°C, seguido de 35 ciclos que incluían 45 segundos de desnaturalización a 94°C, 45 segundos de reincorporación o acoplamiento de los cebadores a 48°C y 45 segundos de extensión a 70°C. Por último, se agregó un ciclo de 5 minutos de extensión final a 72°C. Las reacciones de amplificación se prepararon en un volumen final de 25 µl como se muestra en la **Tabla I**.

6.2.3.2. Amplificación parcial del Citocromo B del ADNmt

Los cebadores que se utilizaron para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron diseñados por Palumbi (1996) a partir del Citocromo B mitocondrial y flanquean una porción de aproximadamente 761 pares de bases. Tales cebadores fueron GluDG.L (5'-TGACCTGAARAACCAYCGTTG-3') y H16460 (5'-CGAYCTTCGGATTACAAGACCG-3').

La amplificación se realizó en un termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient. El perfil del termociclador consistió de un primer ciclo de precalentamiento de 2 minutos a 94°C, seguido de 5 ciclos que incluían 45 segundos de desnaturalización a 94°C, 45 segundos de reincorporación o acoplamiento de los cebadores a 53°C y 1.5 minutos de extensión a 72°C. Después de estos ciclos, lo precedieron 29 ciclos que incluían 45 segundos de desnaturalización a 94°C, 45 segundos de reincorporación o acoplamiento de los cebadores a 58°C y 1.5 minutos de extensión a 72°C. Por último, se agregó un ciclo de 5 minutos de extensión final a 72°C. Las reacciones de amplificación se prepararon en un volumen final de 25 µl como se muestra en la **tabla I**.

6.2.3.3. Amplificación parcial del COI del ADNmt

Los cebadores que se utilizaron para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fueron diseñados utilizando la aplicación en línea Primer-BLAST del NCBI¹, teniendo como base secuencias de la región del Citocromo Oxidasa de otros sciánidos depositadas en el Gene Bank (Números de acceso: EU180144.1; EU180145; EU180146.1; GU440301.1; EU074399.1). El par de cebadores elegidos, flanquean una porción de aproximadamente 451 pares de bases: FCOIF (5'- CAGAACTAAGTCAACCGGCG -3') y FCOIR₂ (5'- TGTCTTAGCTGCCTGGCATT -3').

La amplificación se realizó en un termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient, usando una mezcla de reacción de 25 µl con las mismas concentraciones que las empleadas en la amplificación de la región control del ADNmt (**Tabla I**).

¹ NCBI/ Primer-Blast: Herramienta electrónica para el diseño de cebadores.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>

El perfil del termociclador consistió de un primer ciclo de precalentamiento de 4 minutos a 94°C, seguido de 35 ciclos que incluían 45 segundos de desnaturalización a 94°C, 45 segundos de reincorporación o acoplamiento de los cebadores a 52°C y 45 segundos de extensión a 70°C. Por último, se agregó un ciclo de 5 minutos de extensión final a 72°C.

Tabla I. Concentración de los amortiguadores empleados para la amplificación de los diferentes regiones del ADN mitocondrial (ADNmt) analizadas en el presente trabajo.

	RC ($V_f = 25 \mu\text{l}$)	Cit B ($V_f = 25 \mu\text{l}$)	COI ($V_f = 25 \mu\text{l}$)
Solución Amortiguadora Tris-HCl pH 8.4	22 mM	22 mM	22 mM
Cloruro de Potasio (KCl)	55 mM	55 mM	55 mM
Cloruro de Magnesio (MgCl_2)	3.0 mM	2.0 mM	3.0 mM
Mezcla de nucleótidos (dNTPs)	220 μM	220 μM	220 μM
Cebadores	280 pmol	280 pmol	280 pmol
Taq ADN Polimerasa (Invitrogen™)	1.2 U	1.2 U	1.2 U
ADNt	5 -15 ng	5 -15 ng	5 -15 ng

NOTA: Los marcadores del ADNmt amplificados son *RC* región control, *Cit B* citocromo B y *COI* citocromo oxidasa.

Los amplicones de los tres marcadores (Región control, Citocromo B y Cotocromo Oxidasa) se limpiaron utilizando el kit PCR Purification Kit Pure Link™ (Invitrogen). Posteriormente se estimó la concentración final del ADN amplificado por medio de electroforesis (Agarosa_{EtBr} 1.5%), colocando 3 μl del amplicon en los pozos del gel, corriendo las muestras durante 40 min a 80 V y visualizando el rendimiento de la extracción en una mesa de luz UV. El tamaño de los fragmentos de ADN se determinó por medio de un marcador de peso molecular de 500 pb (Gico-BRL).

6.2.3.4. Secuenciación de los amplicones del ADNmt

Las reacciones de secuenciación se prepararon en un volumen final de 12µl (6.4 pmoles de alguno de los cebadores (Fwd o Rvs), 80-100 ng del fragmento de ADN purificado y H₂O_{dde} hasta ajustar al volumen final y se mandaron a secuenciar a SeqXcel Inc.² en San Diego, California. Dicha compañía emplea nucleótidos terminadores de secuencia (BigDye® Terminador v3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems) y un secuenciador automático DNA ABI PRISM[®] 3130xl Genetic Analyzer de tecnología capilar. Los cromatogramas generados por el secuenciador se almacenaron en formato electrónico hasta su procesamiento.

6.2.4. ADN nuclear (ADNn)

6.2.4.1. Amplificación de los loci de microsatélites

Se amplificó un *locus* de microsatélite específicos de *Totoaba macdonaldi*, caracterizados por León y colaboradores (2010), y cuatro *loci* de microsatélite más, específicos de *Cynoscion acoupa* caracterizados por Farias y colaboradores (2006).

Para analizar los productos de PCR de manera automatizada en el secuenciador, uno de los cebadores lleva una marca fluorescente específica. En el presente trabajo, se utilizó el protocolo de etiquetado universal fluorescente descrito por Schuelke (2000) y por Shimizu y colaboradores (2002).

² SeqXcel: 11526 Sorrento Valley Road Suite B2. San Diego, CA 92121
<http://www.seqxcel.com>

Los microsatélites fueron amplificados en un volumen final de reacción de 25 μ L, usando un amortiguador 22 mM de Tris-HCl pH 8.4, 55 mM de KCl, 220 μ M de dNTP's, 1.2 U de Taq DNA polimerasa recombinante (INVITROGEN), 5 -10 ng de ADN genómico y una concentración de $MgCl_2$ específica para cada loci para cada grupo. Los cebadores empleados para las amplificaciones se mezclaron de la siguiente manera: el cebador Fwd con etiqueta universal (0.086 μ M), el cebador Rvs (0.172 μ M) y el cebador Fwd marcado con el fluorocromo (0.172 μ M), respectivamente. La elección de los distintos fluorocromos para los cebadores Fwd de cada microsatélite se muestra en la **Tabla II**.

Dado que se encontraron varias especies en la muestra, fue necesario utilizar varios perfiles de amplificación que se diferenciaban en la temperatura de alineación de los cebadores (**Tabla II**).

Tabla II. Loci de microsatélites de *T. macdonaldi* y *C. acoupa*, utilizados para el análisis genético poblacional de *Cynoscion sp.* de la RBAGCyDRC.

Locus	Secuencia 5'-3' F: forward / R: reverse	Tipo de Repetición	G01		G02		G03		G04		G05	
			T° C	[MgCl ₂]	T° C	[MgCl ₂]	T° C	[MgCl ₂]	T° C	[MgCl ₂]	T° C	[MgCl ₂]
Tma06	F: ATTAAGAAGAGTGCAGGAAC ^{PET} R: TGTGTCITTTGATGTGTTTGT	(GT) ₁₇	55	1.5	55	1.5	53	3.0	53.5	1.5	55	1.5
Cac03	F: GAGTGACGTCCTCCCTTCTG ^{PET} R: GGTGAGTCTGAGCAGGAAGC	(GT) ₁₅	55	1.5	55	1.5	55	1.5	53.5	1.5	60	1.5
Cac13	F: AGGATGGGATGGAGGAAGAG ^{FAM} R: TACAGGGTTGTGCTCAGTGG	(GA) ₁₃	55	1.5	55	1.5	53	1.5	55	1.5	60	1.5
Cac14	F: ATCTTCTCCCTCCGTCAC ^{NED} R: CTGTGTTGTTAAGGCCATC	(CT) ₁₂	55	1.5	55	1.5	55	1.5	53	1.5	60	1.5
Cac18	F: GCTCGCCTCTCGTGTAA ^{VIC} R: CCTGTGAAACAGCCCATGTA	(GT) ₁₁	55	1.5	55	1.5	55	1.5	55	1.5	55	1.5

NOTA: *Tma* = *T. macdonaldi*; *Cac* = *C. acoupa*; *G01*, *G02*, *G03* y *G04* grupos asignados; T°C indica la temperatura de alineación utilizada en la reacción de PCR para cada cebador y [MgCl₂] la concentración de cloruro de magnesio. Los cebadores F empleados contenían una secuencia complementaria a la de la secuencia marcada con un fluorocromo específico: 5'-TGTAACGACGGCCAGT-3'. Al final de la secuencia de cada cebador F se indica color del fluorocromo con el que fueron etiquetados. Los alelos resultantes tienen tamaños de alrededor de 18 a 20 pares de bases más que los reportados en otras especies debido a la incorporación de la secuencia universal (Universal Sequence Tag).

Así, todos consistían en un periodo de desnaturalización inicial de 3 min a 94° C, seguido de 25 ciclos de 20 seg a 96° C, 40 seg a la temperatura óptima de alineación de cada microsatélite para cada grupo (**Tabla II**), y 40 seg a 72° C; posteriormente 8 ciclos de 20 seg a 95° C, 40 seg a 53 ° C y 40 seg a 72° C, culminando con una extensión final de 15 min a 72° C.

La eficiencia de la reacción de PCR fue evaluada cualitativamente mediante una electroforesis (Agarosa_{aEtBr} 2.0%), colocando 5 µl del producto en los pozos del gel, corriendo durante 90 min a 80 V y visualizando bajo una lámpara de luz ultravioleta.

Después de lo anterior, los productos de amplificación de los 5 loci se mezclaron y se diluyeron hasta llevarlas a una concentración aproximada final de 2-4 ng/µl por locus, que es la concentración promedio que se requiere para el análisis de fragmentos en el secuenciador automático.

6.2.4.2. Análisis del genotipo multilocus del ADNn (PCR)

Después del proceso de amplificación de las muestras a través de la PCR, estas fueron genotipadas en un secuenciador automático de DNA ABI PRISM[®] 3130xl Genetic Analyzer del laboratorio SeqXcel Inc., en la ciudad de San Diego, California, EE.UU.

6.3. Trabajo de Gabinete (Análisis estadístico)

6.3.1. ADN mitocondrial (ADNmt)

6.3.1.1. Edición de las secuencias del ADNmt

Se realizó la alineación y edición de las secuencias de los cromatogramas, por medio de los programas ChromasPro versión 1.5 (Technelysium Pty Ltd) y UltraEdit-32, respectivamente, para obtener las secuencias nucleotídicas finales de cada muestra. Una vez alineadas las secuencias, se removieron los extremos correspondientes a los cebadores.

6.3.1.2 Filogenia intraespecífica

Se aplicó una prueba de hipótesis jerárquica para establecer el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajuste a los datos observados usando el programa ModelTest (Posada y Crandall, 1998). El modelo así seleccionado fue empleado para calcular la distancia genética molecular y reconstruir así la filogenia intraespecífica a través de un árbol filogenético de mínima evolución (Rzhetsky y Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2007) y una red de la mínima dispersión (*minimum spanning network*,) (Excoffier *et al.*, 1992).

6.3.1.2. Diversidad genética

Inicialmente se realizó la identificación de los sitios variables entre las secuencias mediante el programa MEGA 4.0 (Tamura *et al.*, 2007). Este programa permitió identificar las secuencias distintas (haplotipos) y el cálculo de sus frecuencias relativas.

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

6.3.1.3. Estructura genética

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

Se usaron dos matrices de distancia genética entre los individuos: el número de diferencias nucleotídicas y la basada en el modelo de Tamura-Nei seleccionado por el ModelTest.

Todos los análisis de estructura poblacional se realizaron con ayuda del programa Arlequin ver. 3.5.1.2 (Excoffier *et al.*, 2006).

6.3.1.4. Historia demográfica

La distribución de diferencias pareadas es afectada por múltiples factores, como los son los cambios demográficos, la selección y la recombinación (Mousset *et al.*, 2004). Así pues, para el análisis de la demografía histórica se comparó la distribución de diferencias pareadas observadas con la esperada bajo un escenario de expansión demográfica.

Dado que el correcto uso de los algoritmos anteriormente señalados supone neutralidad de los marcadores, se aplicó el índice D de Tajima para probar neutralidad y evaluar de forma paralela si existía evidencia de expansión demográfica. Estos análisis se efectuaron en el programa Arlequin ver. 3.5.1.2 (Excoffier *et al.*, 2006).

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

6.3.2. ADN nuclear (ADNn)

6.3.2.1. Lectura de Alelos del genotipo multilocus del ADNn

Los archivos electrónicos correspondientes a cada cromatograma, fueron leídos mediante el GeneMarker Software V1.85 (SoftGenetics LLC), que determina el tamaño de los alelos en cada *locus* y para cada individuo, según la información obtenida de los cromatogramas.

Se registró del tamaño de los alelos por tres personas de forma independiente, para evaluar la consistencia en la asignación de los alelos mediante la comparación de los mismos.

La forma en que se interpretan los resultados, fundamentalmente se sustenta en que, una sola señal (un solo pico del cromatograma) indica el genotipo de un individuo homocigoto ya que ambos alelos son del mismo tamaño y la señal de ambos alelos se traslapa.

En cambio, dos señales indica el genotipo de un individuo heterocigoto, donde cada señal representa a cada uno de sus alelos (Selkoe y Toonen, 2006). Los alelos de cada individuo generan un set único que corresponde al genotipo *multilocus*.

Como control de calidad del genotipado, cada investigador evaluó la consistencia en el tamaño de los alelos para las muestras testigo y verificó la ausencia de señal en los controles negativos.

Posteriormente, se realizó el análisis de los genotipos multilocus a través de los programas MICRO-CHECKER v2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004), MSTOOLS v3.1.1 (Park 2001) y ARLEQUIN v3.1 (Excoffier *et al.*, 2005).

Esto, con la finalidad de hacer una selección de los microsatélites con el mejor desempeño y evitar así introducir un sesgo en los análisis subsecuentes.

El software MICRO-CHECKER identifica los errores en el genotipado ya sea por la presencia de alelos nulos (alelos no amplificados), por la amplificación diferencial de los alelos (allelic dropout), el tartamudeo de polimerasa (stutter peaks) o por errores tipográficos.

Por su parte, el software MSTOOLS (Park, 2001) detecta la presencia de muestras con genotipos incompletos o alelos raros, así como aquellos genotipos idénticos o casi idénticos que pudieran estar asociados con problemas en la calidad y la reproducibilidad del genotipado.

Finalmente, el software ARLEQUIN analiza el desequilibrio en el ligamiento entre los microsatélites (Pairwise linkage disequilibrium), es decir, si dos loci se encuentran ligados o se segregan independientemente. En el caso de detectarse loci ligados, estos no deberán considerarse en el análisis, para evitar la introducción de sesgo en los estimadores de diversidad genética (ver Guo y Thompson 1992).

6.3.2.2. Diversidad genética

Para hacer el análisis de frecuencias alélicas y diversidad genética (H_o : heterocigosidad observada y H_e : heterocigosidad esperada) para cada *locus*, se utilizó el programa Arlequin ver. 3.5.1.2 (Excoffier *et al.*, 2006), GenALEX v6.3 (Peakall y Smouse 2006) y MSTOOLS v3.1.1 (Park 2001).

En dichos programas se estimaron, con base en las frecuencias alélicas, las desviaciones al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) para cada *locus* en cada población.

Una diferencia significativa entre H_o y H_e nos habla de cierto nivel de subdivisión en la población (efecto Whalund), aunque también podría ser reflejo de errores de genotipado asociados a la presencia de alelos nulos. Para analizar los microsatélites y evaluar su calidad, se utilizó el software Micro-checker.

6.3.2.3 Estructura genética

Con el objeto de establecer la posible presencia de estructura genética, entre las dos localidades muestreadas, se efectuó un análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, mediante el programa Arlequín 3.5.1.2 (Excoffier, 2006).

La significancia estadística del AMOVA fue evaluada a través de 5,000 permutaciones no paramétricas con base en el estadístico F de Wright (F_{ST} Wright, 1965).

Para el AMOVA se emplearon dos aproximaciones teóricas del modelo de mutación de los *loci* de microsatélites. La primera aproximación se basa en el modelo de alelos infinitos (IAM) y esta representado por el índice F_{ST} , el cuál sólo considera la frecuencia de los alelos detectados considerando que cada mutación da origen a un nuevo alelo.

En la segunda aproximación, basada en el modelo de mutación por pasos (SMM) y representada a través del índice R_{ST} , se considera no sólo la frecuencia de los alelos, sino la distancia genética molecular encontrada entre estos (Balloux y Lugon-Moulin 2002). El nivel de significancia de todos los análisis estadísticos se fijó al 95% ($\alpha=0.05$).

6.3.2.4. Historia Demográfica

Se utilizó el programa Bottleneck V2.6, que calcula para cada muestra de la población y para cada locus, la distribución de la heterocigosidad esperada en base al número de alelos observado (k) según el tamaño de la muestra (n), en el supuesto de equilibrio mutación-deriva.

Este programa, permite el cálculo de la media (H_e esperada), que se compara con la heterocigosidad observada, para establecer si hay un exceso o déficit de heterocigosidad en cada loci. Posteriormente, con base en los resultados de las pruebas estadísticas para cada modelo de mutación (ver Cornuet y Luikart, 1996); Luikart *et al.*, 1997), la forma de la distribución de frecuencias de alelos se compara con la esperada bajo condiciones de equilibrio deriva-mutación (forma de L) o de eventos de cuellos de botella (sin forma de L).

7. RESULTADOS

7.1. Análisis Preliminares

7.1.1. Análisis Preliminares ADNmt

Se logró obtener, amplificar y secuenciar la región control (RC) del ADNmt de los 51 especímenes recolectados en el año 2009, 29 organismos correspondientes a la localidad de San Felipe B.C., México (SF en lo sucesivo) y 22 a la localidad de Santa Clara Son., México (SC en lo sucesivo) (**Tabla III**).

Al momento de editar y alinear las secuencias, se observó un número de diferencias pareadas mucho mayor al esperado, en las muestras de la localidad de SF. Además, se observó una diversidad mucho más alta de la esperada para una sola especie, por lo que las secuencias mostraban un sub-agrupamiento anormal (Los subgrupos fueron nombrados: G01, G02, G03 y G04).

Dadas estas características, se sospechó que existía la posibilidad de tener mas de una especie dentro de las muestras analizadas para esta localidad; por ello, se decidió hacer un árbol filogenético preliminar para verificar si trataba o no de diferentes especies según el porcentaje de remuestreo por bootstrap que divide a las especies según las diferencias filogenéticas entre las secuencias (**Figura 2**).

La topología del árbol filogenético reconstruido con las secuencias de RC de las muestras de corvina del 2009, evidenció la presencia de tres especies de corvinas (G01, G03 y G04) dentro de las muestras de San Felipe, al exhibir valores de bootstrap mayores a 90% en los nodos basales de cada subgrupo (**Figura 2**).

Debido a que se desconocía la identificación de las especies encontradas dentro de la muestra y no se contaba con el ejemplar completo de alguna o cada especie para realizar su identificación taxonómica, se procedió a complementar el trabajo de campo del 2009, realizando un nuevo muestreo en la temporada de pesca de corvina golfina en el año 2010 (Revisar Metodología: Trabajo de campo).

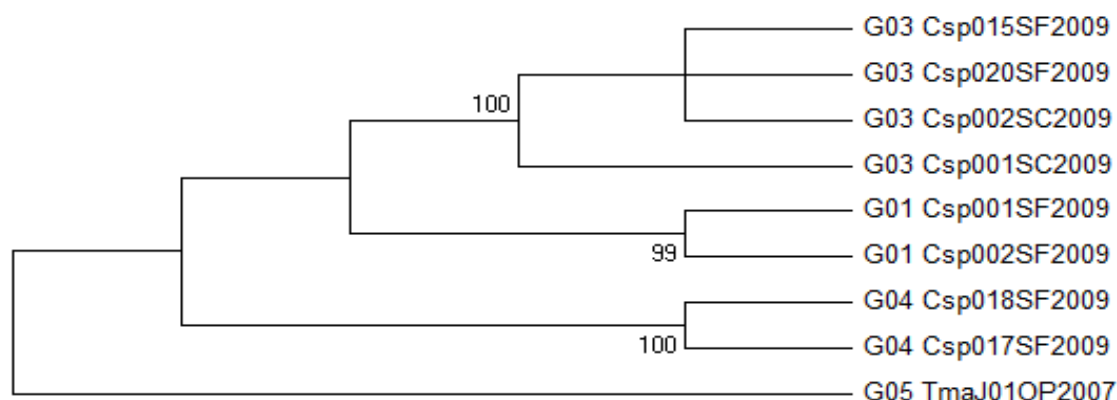


Figura 2. Árbol filogenético preliminar de las muestras de corvina ssp. del 2009, de las costas de la RBAGCyDRC de Baja California, México. Reconstrucción basada en el criterio del vecino mas cercano (Neighbor-Joining) y empleando el modelo de sustitución nucleotídica basado en el Numero de Diferencias. Se indican sobre los nodos los valores de sustento de las ramas después de 5000 remuestreos por bootstrap. **NOTA:** En esta figura se muestran solo algunos ejemplares de cada grupo encontrado en el 2009 (G01,G03 y G04), también se incluyó como grupo externo una muestra de *Totoaba macdonaldi* analizada en el 2007 (G05).

De los 89 especímenes recolectados en el año 2010, se logró obtener, amplificar y secuenciar la región control del ADNmt de todos los organismos. En total, se obtuvo, amplificó y secuenció la región control del ADNmt de 140 especímenes recolectados en las temporadas de pesca de corvina golfina de los años 2009 y 2010 (**Tabla III**).

Tabla III. Numero de especímenes de corvina recolectados en las costas del AGC durante las temporadas de pesca del 2009 y 2010.

	San Felipe		Santa Clara		TOTAL
	N (2009)	N (2010)	N (2009)	N (2010)	
G01	13	29	0	0	42
G02	0	4	0	0	4
G03	14	25	22	31	92
G04	2	0	0	0	2
TOTAL	29	58	22	31	140

NOTA: Donde *N* representa el número total de especímenes y *G01*, *G02*, *G03*, *G04* los grupos asignados.

Se realizó la amplificación de la RC del ADNmt de los 140 especímenes. De este análisis se hizo un árbol filogenético que nuevamente definió con altos valores de bootstrap 3 especies en las muestras de San Felipe 2009 (G01, G03 y G04) y una más (G02) encontrada únicamente durante la temporada de pesca del muestreo del 2010.

Se decidió agregar al árbol algunas secuencias homologas de otros scióanidos depositadas en el GeneBank, para ver si se lograba identificar alguna de las especies presentes en la muestra. No obstante, no se obtuvo ninguna aproximación (**Figura 3**).

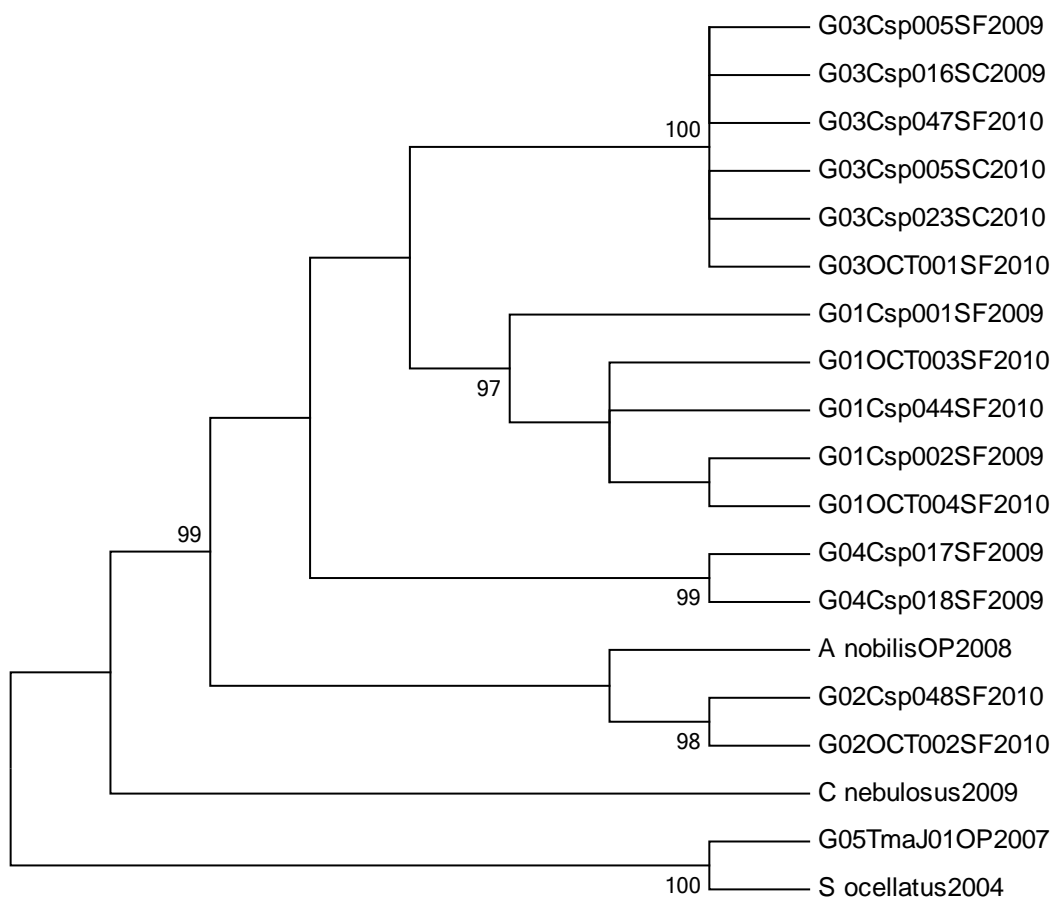


Figura 3. Árbol filogenético preliminar de las muestras de RC de corvina ssp. del 2009 y 2010, de las costas de la RBAGCyDRC de Baja California, México. Reconstrucción basada en el criterio del vecino más cercano (Neighbor-Joining) y empleando el modelo de sustitución nucleotídica basado en el Numero de Diferencias. Se indican sobre los nodos los valores de sustentación de las ramas después de 5000 remuestreos por bootstrap. **NOTA:** En esta figura se muestran solo algunos ejemplares de cada grupo encontrado, también se incluyó como grupo externo una muestra de *Totoaba macdonaldi* analizada en el 2007 (G05) y otras secuencias del Genbank.

7.1.2. Análisis preliminares ADNn

Las pruebas preliminares del ADNn corroboraron lo encontrado por el marcador de ADNmt, es decir, la presencia 4 especies. En la figura 4 se muestra la gráfica de asignación de poblaciones según el genotipo multilocus de las muestras corvina, en la que se obtuvo una asignación correcta del 100% de los casos para las muestras de cada grupo (**Figura 4**).

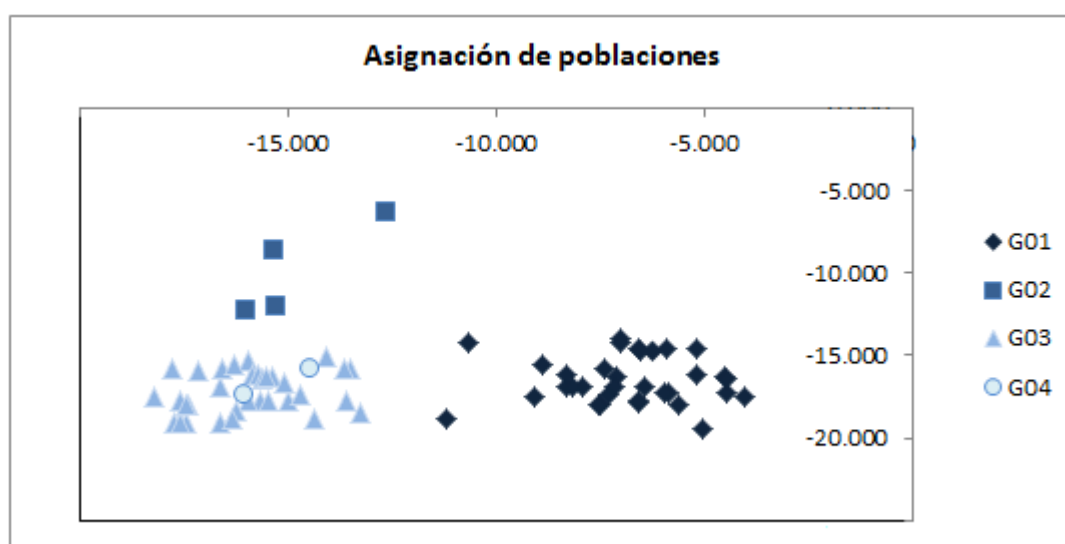


Figura 4. Asignación de poblaciones según el genotipo multilocus de las muestras corvina de las costas del AGC, Baja California, México. **NOTA:** En esta figura se muestran los puntos resultantes de valores de asignación (x,y) arrojados por el GenAlex (v6.3) para cada ejemplar. Los subgrupos fueron nombrados nuevamente G01, G02, G03 y G04 ya que coinciden con el agrupamiento del árbol filogenético preliminar de las muestras de RC.

A pesar de que los seis microsatélites juntos muestran un 100% de asignación correcta de poblaciones según el genotipo multilocus de las muestras corvina, si se analizan los microsatélites por separado, vemos que cada uno tiene diferente potencial de asignación (**Tabla IV**). De estos resultados podríamos concluir que el microsatélite Tma06 es el de mejor potencial de asignación con un 93% de casos bien clasificados.

Tabla IV. Resumen de la asignación de poblaciones por microsatélite.

Grupo	Tma06		Cac03		Cac13		Cac14		Cac18		TODOS	
	BC	MC	BC	MC	BC	MC	BC	MC	BC	MC	BC	MC
G01	31	2	17	16	31	2	32	1	31	2	33	0
G02	3	1	0	4	4	0	1	3	4		4	0
G03	32	2	27	7	27	7	29	5	30	4	34	0
G04	2	0	0	2	2	0	2	0	2		2	0
Total	68	5	44	29	64	9	64	9	67	6	73	0
Porcentaje	93%	7%	60%	40%	88%	12%	88%	12%	92%	8%	100%	0%

NOTA: *Tma06* Loci de microsatélites de *T. macdonaldi* y *Cac03*, *Cac13*, *Cac14* y *Cac18* loci de microsatélites de *C. acoupa*; BC denota el número de casos bien clasificados, mientras que MC denota el número de casos mal clasificados.

7.2. Identificación

7.2.1. Identificación taxonómica con base en la morfometría

Para lograr identificar las especies encontradas, se realizó un registro fotográfico de los especímenes muestreados y se preservó al menos un organismo completo de aquellos especímenes con aparente disimilitud morfológica del muestreo del 2010, para su posterior análisis taxonómico (Organismos tipo, **Figura 5**).

Como primera aproximación en la identificación de los especímenes, se encuestó a los pescadores ribereños de la comunidad de San Felipe que nos proporcionaron los organismos del muestreo.

Con base a esta entrevista, se distinguieron 4 grupos de especímenes en la captura (**Figura 5**), los cuáles fueron etiquetados e identificados de forma preliminar según lo que los pescadores indicaron. Así se obtuvo, que el organismo tipo (OT en lo sucesivo) OT01 corresponde a una corvina plateada, el OT02 y OT04 a corvinas golfinas y el OT03 a una corvina chano (**Tabla V**).

Los OT's fueron transportados al laboratorio de Vertebrados, en donde se realizó la identificación taxonómica de los organismos, utilizando las guías y claves de identificación de la FAO (1995). Posteriormente los organismos fueron depositados en la "Colección Ictiológica"³ de la Facultad de Ciencias.

De acuerdo con las claves de identificación y la opinión de dos especialistas en la identificación de peces⁴, el OT01 correspondió a la corvina de aleta corta (*Cynoscion parvipinnis*), el OT02 a corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) y tanto el OT03 como el OT04 a corvinas rayadas (*Cynoscion reticulatus*) (**Tabla V**).

³ Colección Ictiológica del laboratorio de Vertebrados de la Facultad de Ciencias de la UABC, Ensenada B.C., México.

⁴ Dr. Gorgonio Ruíz Campos (gruiz@uabc.edu.mx)

Docencia e investigación en Facultad de Ciencias.

M.C. Conal David True (ctrue@uabc.edu.mx)

Docencia e investigación en Facultad de Ciencias Marinas.

Ambas Facultades de la Universidad Autónoma de Baja California: UABC, Km. 103 Carretera Tijuana-Ensenada. Ensenada, B.C., México C.P. 22860. Tel. (646) 175 07 10.

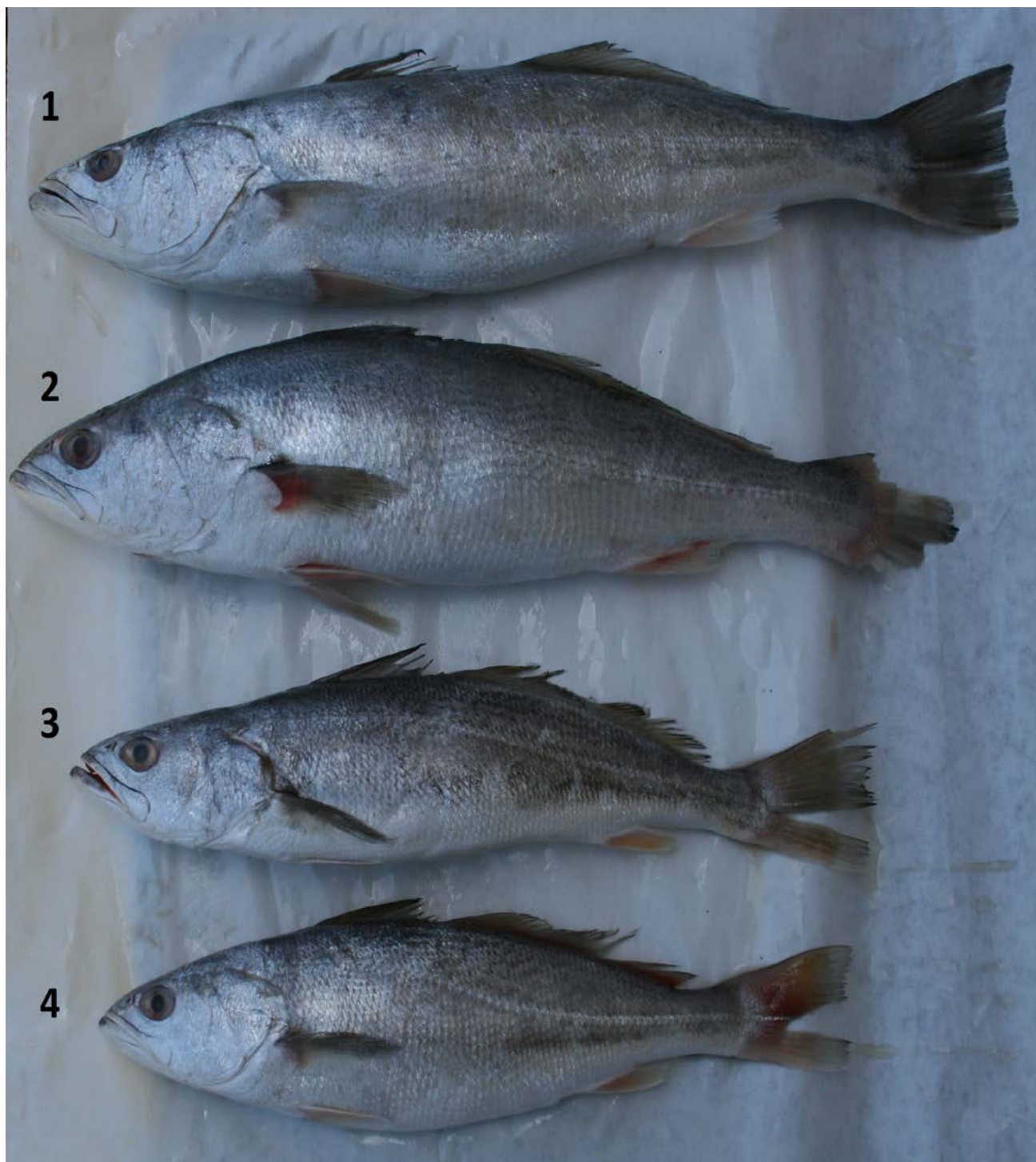


Figura 5. Organismos Tipo con diferencias morfológicas aparentes, colectados durante el muestreo del 2010, de la pesquería de corvina golfina de las costas de la RBAGCyDRC de Baja California, México.

7.2.2. Identificación taxonómica a nivel molecular

Los análisis preliminares del ADNmt evidenciaron la presencia de cuatro grupos de secuencias (G01, G02, G03 y G04) dentro de las muestras de San Felipe de las temporadas de pesca del 2009 y 2010. Tentativamente se consideró que cada uno de estos grupos representaba una especie.

Debido a que en la identificación de estas especies putativas se presentaron discrepancias entre lo reportado por los pescadores y las identificaciones basadas en las claves taxonómicas, se decidió hacer un análisis genético molecular con el objeto de identificar sin ambigüedades las especies encontradas.

Dado que dentro de las secuencias de la región control del ADNmt disponibles en el GeneBank para diferentes sciánidos, no se encuentran las de la mayoría de las especies presentes en el AGC, no se logró obtener ninguna aproximación confiable en la identificación de los organismos tipo (**Figura 3**). Por esta razón, se decidió complementar estos análisis con el análisis de otro gen mitocondrial: el citocromo oxidasa (COI).

Mediante el árbol filogenético reconstruido con las secuencias de COI (**Figura 6**) de las muestras de corvina depositadas en el GeneBank de diferentes estudios y las secuencias obtenidas en el presente estudio, únicamente se logró identificar al G02 como filogenéticamente cercana a la corvina aleta corta (*Cynoscion parvipinnis*), mientras que el resto de los grupos (G01, G03 y G04) permanecieron sin identificación (**Tabla V**).

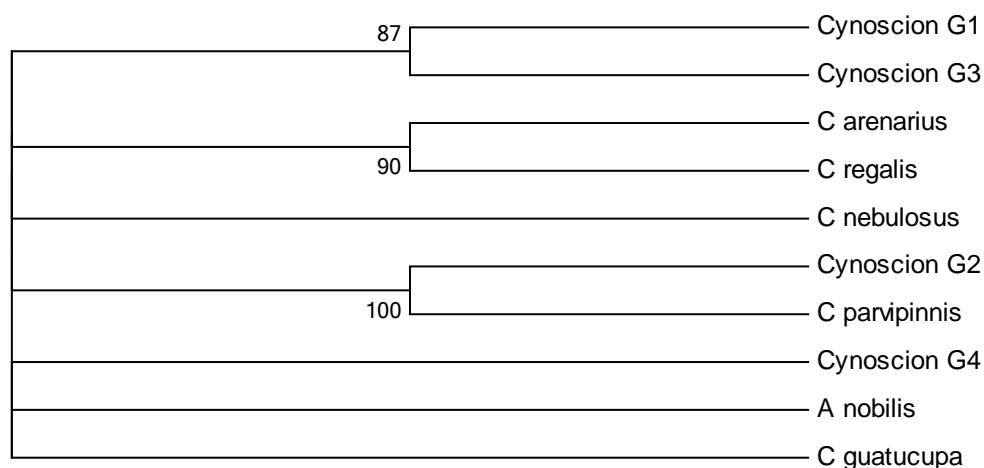


Figura 6. Árbol filogenético preliminar de las secuencias de COI de las muestras de corvina de las costas de la RBAGCyDRC de Baja California, México. Reconstrucción basada en el criterio del vecino más cercano (Neighbor-Joining) y empleando el modelo de sustitución nucleotídica basado en el Número de Diferencias. Se indican sobre los nodos los valores de sustento de las ramas después de 5000 remuestreos por bootstrap.

Finalmente, para la identificación molecular de las especies encontradas en la muestra de San Felipe, B.C., durante las temporadas de pesca del 2009 y 2010 (**Tabla II**), se decidió amplificar la región del citocromo b (Cit B), ya que recientemente Vergara-Chen y colaboradores (2009) realizaron un análisis filogenético con este gen, en el que se incluyen un gran número de especies del grupo *Cynoscion* particularmente aquellas que se distribuyen en el Golfo de California y el Pacífico mexicano.

La topología del árbol filogenético reconstruido con las secuencias de Cit B del estudio de Vergara-Chen y colaboradores (2009) y las obtenidas en el presente estudio, permitió la asignación de los grupos de secuencias encontrados en el muestreo de San Felipe, B.C., a aquellas especies con las que quedaron agrupadas y cuyos nodos basales presentaron valores de bootstrap mayores a 95% (**Figura 7**).

De este última aproximación resultó que la especie del grupo 1 (G01) es corvina rayada o *Cynoscion reticulatus*; la especie del grupo 2 (G02) no se logró identificar al no agruparse con ninguna especie enlistada por Vergara y colaboradores (2009); la especie del grupo 3 (G03) es *Cynoscion othonopterus* o bien corvina golfina; y finalmente, la especie del grupo 4 resultó filogenéticamente cercana a *Isopisthus remifer* (**Figura 7**).

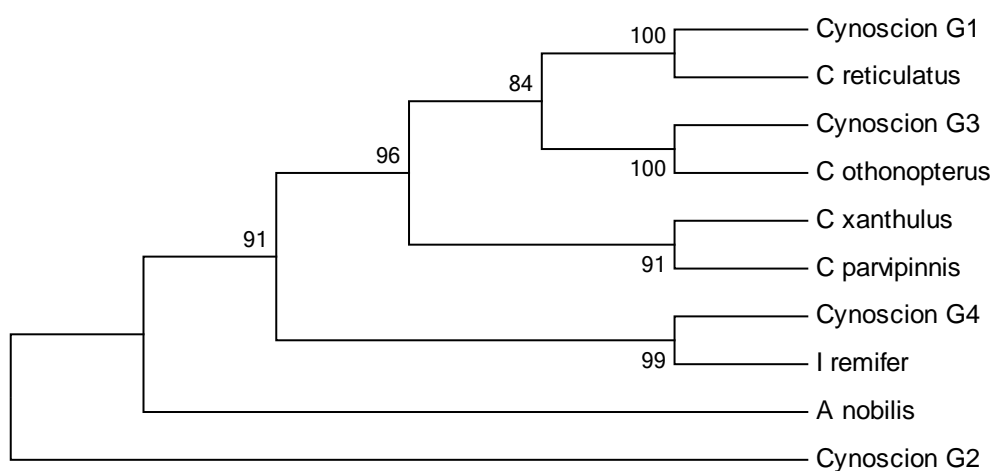


Figura 7. Árbol filogenético preliminar de las secuencias de Cit B de las muestras de corvina de las costas de la RBAGCyDRC de Baja California, México. Reconstrucción basada en el criterio del vecino mas cercano (Neighbor-Joining) y empleando el modelo de sustitución nucleotídica basado en el Numero de Diferencias. Se indican sobre los nodos los valores de sustento de las ramas después de 5000 remuestreos por bootstrap.

Posteriormente se realizó una comparación del árbol filogenético obtenido del análisis de las secuencias del citocromo B (Cit B) con aquellos obtenidos con la región control (RC) y el citocromo oxidasa (COI) para corroborar la clasificación e identificación (**Tabla V**).

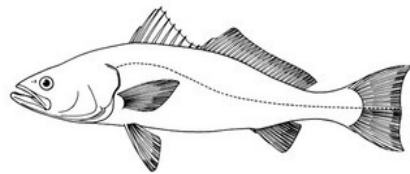
De esta comparación, observamos que las topologías de las reconstrucciones filogenéticas de los genes mitocondriales COI y Cit B (**Figuras 6 y 7 respectivamente**), además de diferir, no concuerdan con lo descrito por los pescadores o por las guías de identificación de la FAO (**Tabla V**).

Sin embargo, los resultados encontrados con el Cit B concuerdan, al menos para los dos grupos de secuencias con mayor representación en la muestra, con las identificaciones realizadas con ayuda de los especialistas mediante las claves de identificación de la FAO. Además, el haber encontrado un mayor número de individuos en el grupo G03 (N=92) clasificada por el Cit B como corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) concuerda con lo esperado tratándose de una pesquería de corvina golfina.

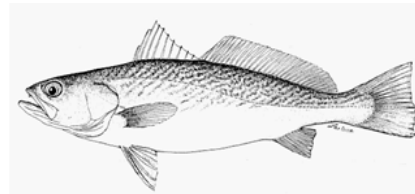
Por lo anterior, a reserva de que se requieren estudios a detalle sobre la taxonomía de los sciánidos del AGC, se decidió tomar como la identificación más confiable y la asignación correcta de los grupos a cada especie, aquella basada en las secuencias del Cit B (**Tabla V**).

Tabla V. Identificación de los diferentes especímenes muestreados en San Felipe (SF). Donde *G01*, *G02*, *G03* y *G04* hacen referencia a los grupos encontrados filogenéticamente; *SF(N_T)* es el número total de especímenes recolectados de cada grupo en la localidad de San Felipe; *SC(N_T)* es el número total de especímenes recolectados de cada grupo en la localidad de Santa Clara; *OT* son los organismos completos tipo, recolectados en el muestreo formal de San Felipe durante la temporada de pesca del 2010; *Especie: Pescadores* hace referencia a la identificación de los organismos disímiles según los pescadores; *Especie: Taxonomía* hace referencia a la identificación de los organismos disímiles según las claves taxonómicas de la FAO; *Especie: Cit B* hace referencia a la identificación de los organismos disímiles según las secuencias mitocondriales del Cit B obtenidas en el presente estudio y su comparación con las del estudio filogenético de Vergara-Chen y colaboradores (2009); *Especie: COI* hace referencia a la identificación de los organismos disímiles según las secuencias mitocondriales del del COI obtenidas en el presente estudio y comparadas con las del GeneBank.

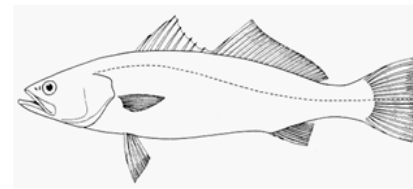
Grupo	SF (N _T)	SC (N _T)	OT	Especie: Pescadores	Especie: Taxonomía	Especie: Cit B	Especie: COI
G01	42	0	3 y 4	Corvina Chano vs Corvina Golfina	<i>Cynoscion reticulatus</i>	<i>Cynoscion reticulatus</i>	<i>Cynoscion ssp</i>
G02	4	0	2	Corvina Golfina	<i>Cynoscion othonopterus</i>	<i>Cynoscion ssp</i>	<i>Cynoscion parvipinnis</i>
G03	39	53	1	Corvina Plateada	<i>Cynoscion parvipinnis</i>	<i>Cynoscion othonopterus</i>	<i>Cynoscion ssp</i>
G04	2	0	-	-	-	-	<i>Cynoscion ssp</i>



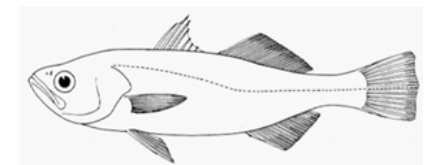
Cynoscion othonopterus



Cynoscion reticulatus



Cynoscion parvipinnis



Isopisthus remifer

Figura 8. Imágenes de las especies identificadas, tomadas del foro internacional de pesca realizado por la FAO.

La prueba de hipótesis jerárquica implementada en el programa ModelTest estableció como mejor modelo el de sustitución nucleotídica el de Kimura 2-P. La figura 9 muestra el árbol filogenético intraespecífico reconstruido con base en dicho modelo y bajo el criterio de optimización por mínima evolución.

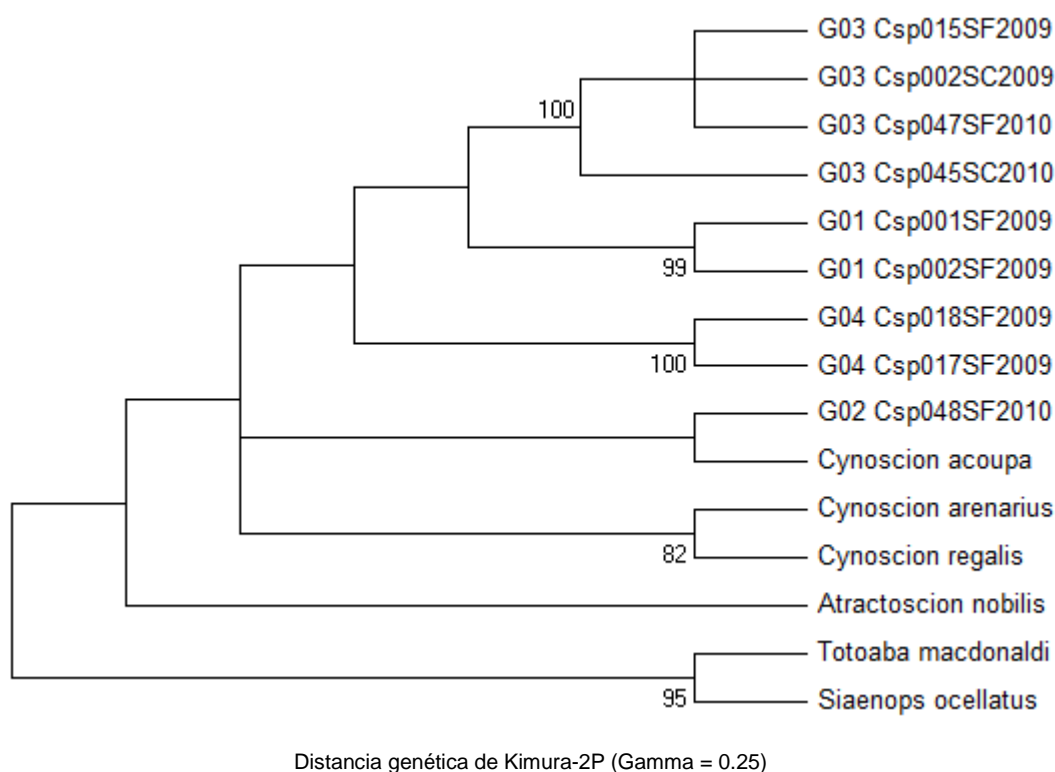


Figura 9. Árbol filogenético linearizado de las secuencias de RC de las muestras corvina de las costas del AGC, Baja California, México. Reconstrucción basada en el criterio de mínima evolución y empleando el modelo de sustitución nucleotídica de Kimura 2P. Se indican sobre los nodos los valores de sustentación de las ramas después de 5000 remuestreos por bootstrap.

Se unieron las secuencias de los tres genes mitocondriales (Región control, Cit B y COI) y se construyó un árbol filogenético, para hacer una relación filogenética de las especies encontradas según las diferencias entre las secuencias (**Figura 10**).

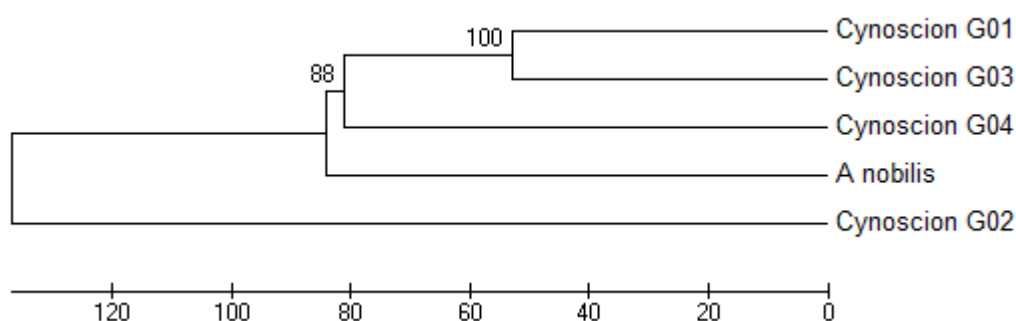


Figura 10. Árbol filogenético de las secuencias unidas (RC, Cit B y COI) de las muestras de corvina de las costas de la RBAGCyDRC de Baja California, México. Reconstrucción basada en el criterio del vecino más cercano (Neighbor-Joining) y empleando el modelo de sustitución nucleotídica basado en el Número de Diferencias. Se indican sobre los nodos los valores de sustentación de las ramas después de 5000 remuestreos por bootstrap.

Para los subsecuentes análisis genéticos se decidió trabajar no solo con la corvina golfina (G03), sino incluir también a la corvina rayada (G01). Esto debido a que ambas se presentaron en números importantes dentro de la captura: 65.5% (N=92) y 30.3% (N=42), respectivamente (**Tabla III**).

7.3. Diversidad Genética

7.3.1. Diversidad genética del ADNmt

7.3.1.1. *Corvina Golfina (G03: Cynoscion othonopterus)*

Para el análisis por separado, se logró obtener, amplificar y secuenciar la región control del ADNmt de los 92 especímenes recolectados. Después de editar y alinear las secuencias se pudo comparar sin ambigüedades un fragmento homólogo de 402 (324 UL) pares de bases correspondiente a la región control mitocondrial (**Tabla VI**).

La composición nucleotídica promedio de las secuencias de corvina G01 resultó en una mayor proporción pirimidica (C= 23.18%; T= 29.58%; A= 39.81%; G= 7.43%).

Tabla VI. Secuencia nucleotídica de la porción de la región control mitocondrial de la corvina G03. La secuencia corresponde al haplotipo G03H 01 que fue el que se presentó con mayor frecuencia en la muestra analizada. Entre corchetes se especifica el número del sitio para el último nucleótido de cada línea.

CCACCACTAA	TTCCCAAAAC	TAGTATTCTA	AACTAAACTA	CTCTTTGCAC	ACATATGCAT	[060]
ATATGTATAT	ACACCATACA	ATTATATTAA	CCATATCAAT	AGTATTCAAG	TACATATATG	[120]
TTAATAAAC	ATTTCTGGT	TTACCCATT	CATACATCAC	CATTTAAAGA	TAAAATACAT	[180]
AAAGCATTAA	CTGAAAAACT	CCAATGTCTA	TTAAATACAA	CTGGCGAAAC	TTATATACCT	[240]
AAACAGCACAA	TCCATAAGTC	TAGATATACC	ATGCACCCAA	CATCCTATTT	TCCCTCAAAA	[300]
TTTAAATGTA	GTAAGAACCG	ACCA				[324]

En la **Tabla VII** se presentan los sitios variables que definen cada haplotipo, así como la frecuencia relativa de los mismos. En los 92 especímenes analizados se observaron 25 sitios variables, 8 de ellos filogenéticamente informativos (parsimoniosos), que permitieron distinguir 23 haplotipos mitocondriales de G03.

Tabla VII. Sitios variables y frecuencia relativa de los haplotipos mitocondriales de la corvina G03 observados para la costas del AGC de Baja California, México.

		[0 0 0 0 0 0 0 1 1 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 3 3 3 3]
		[2 2 3 3 3 3 4 0 0 1 2 3 4 6 8 9 0 5 6 7 9 0 0 1 1]
Haplotipo	Frecuencia	[0 8 2 3 5 8 8 7 9 7 1 6 3 5 9 6 5 1 1 8 9 3 6 7 9]
		C C A C A C C C A T T C A T A A T A C C A T A A C
G03H01	0.549
G03H02	0.011 C . . .
G03H03	0.044 C
G03H04	0.077 C
G03H05	0.011 G
G03H06	0.011 T
G03H07	0.011 T
G03H08	0.011 T
G03H09	0.077
G03H10	0.011
G03H11	0.033 G C
G03H12	0.022 C . T
G03H13	0.011 C . T
G03H14	0.011 C
G03H15	0.011	. . T A T C
G03H16	0.011	A T . . . A
G03H17	0.011 G
G03H18	0.022 T
G03H19	0.011 C
G03H20	0.011 T G
G03H21	0.011	. T . . . A
G03H22	0.011 C A
G03H23	0.011 G . C C C . .

NOTA: Los sitios parsimoniosamente informativos se indican con sombreado gris.

7.3.1.2 *Corvina Rayada (G01: Cynoscion reticulatus)*

Para el análisis por separado, se logró obtener, amplificar y secuenciar la región control del ADNmt de los 42 especímenes recolectados. Después de editar y alinear las secuencias se pudo comparar sin ambigüedades un fragmento homólogo de 444 (365 UL) pares de bases correspondiente a la región control mitocondrial (**Tabla VIII**).

La composición nucleotídica promedio de las secuencias de corvina G01 resultó en una mayor proporción pirimidínica (C= 21.61%; T= 28.52%; A= 39.68%; G= 10.19%).

Tabla VIII. Secuencia nucleotídica de la porción de la región control mitocondrial de la corvina G01. La secuencia corresponde al haplotipo G01H3 que fue junto con el G01H12 el que se presentó con mayor frecuencia en la muestra analizada. Entre corchetes se especifica el número del sitio para el último nucleótido de cada línea.

CACCACTAAT	TCCCAAAACT	AGTATTCTAA	ACTAAACTAC	TCTTTGCAAC	ATATGCATAT	[60]
ATGTATATAC	ACCATACAAT	TATATTAACC	ATATCAATAG	TATTCAAGTA	CATACATGTT	[120]
TTATCAACAT	TTCCTGGTTT	AACCCATTCA	TACATCACCA	TTAAAAAGAT	GAAATACACA	[180]
AAGCATATTA	AAGAAACTCC	AACAAACTCT	AAAAACACAAC	TGGCGAAACT	TATATACCTA	[240]
ACAGTAAAAAT	TCATAAGTCT	AGATATACCA	TGCACCCAAC	ATCCTATAAT	CCCTCAAAAAT	[300]
CTTAATGTAG	TAAGAACCGA	CCATCAGTTG	ATTTCTTAAT	GCATTGCGTT	ATTGAAGGTG	[360]
AGGGA						[365]

En la **tabla IX** se presentan los sitios variables que definen cada haplotipo, así como la frecuencia relativa de los mismos. En los 42 especímenes analizados se observaron 33 sitios variables, 20 de ellos filogenéticamente informativos (parsimoniosos), que permitieron distinguir 31 haplotipos mitocondriales de G01. Los haplotipos G01H03 y G01H12 exhibieron las mayores frecuencias relativas encontrándose en 6 de los especímenes muestreados, 3 para cada uno.

Tabla IX. Sitios variables y frecuencia relativa de los haplotipos mitocondriales de la corvina G01 observados para las costas del AGC de Baja California, México.

Haplotipo	Frecuencia	[0 0 0 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 3 3 3 3]
		[4 5 7 0 0 1 4 5 6 6 7 7 7 7 7 8 9 0 0 1 1 3 5 5 7 7 8 9 2 4 5 5 6]
		[7 9 9 1 5 8 0 5 4 7 1 3 4 8 9 7 3 4 9 5 6 7 0 1 1 6 4 4 7 5 3 9 4]
		C A A T C G T T A A G A A A C A G A C C A C T T T C C T G T T T G
G01H01	0.025
G01H02	0.025 T
G01H03	0.075
G01H04	0.025 T
G01H05	0.050 T T
G01H06	0.025 T G T
G01H07	0.025 G . . G T . . . C . . .
G01H08	0.050 G T . . . C . . .
G01H09	0.025 G T
G01H10	0.025 G T T T
G01H11	0.025 C C . . . G G T
G01H12	0.075 C C . . . G T
G01H13	0.025 T . C C . . . G T
G01H14	0.025 C G . G T
G01H15	0.025 C G . G T
G01H16	0.025	. G G C T
G01H17	0.050	. G G . . G C T
G01H18	0.025	. G G . . G T C T
G01H19	0.025	. G G T C T
G01H20	0.025	. G G C T
G01H21	0.025 G G . G C . . T
G01H22	0.025 T T
G01H23	0.025 T
G01H24	0.025 T . . G T
G01H25	0.025	T G . T C
G01H26	0.050	. . . C . A . . . A G G G C . T
G01H27	0.025	. . . C . A . . . A G G G G . . C . T
G01H28	0.025	. . . C . A . . . A G G G T . C C T
G01H29	0.050	. . . C A G G G C T . C
G01H30	0.025	. . . C . A . . . A G G G G . . C T
G01H31	0.025	. . T . . . C C . . . G T . . T . G G A

NOTA: Los sitios parsimoniosamente informativos se indican con sombreado gris.

En particular, tanto el número de haplotipos relativo al número de individuos analizados, la diversidad haplotípica y la diversidad nucleotídica fueron mayores para G01 que para G03 (**Tabla X**).

El polimorfismo en la región control mitocondrial de la corvina (G01) se caracterizó por una alta proporción de transiciones 5:1, mientras que para la corvina ssp (G03) hubo un equilibrio casi 1:1 de transición/transversión (**Tabla X**).

Los valores de diversidad genética molecular del ADNmt (H y Π_n) muestran que la especie con menor diversidad es la corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*).

Tabla X. Polimorfismo de la región control mitocondrial y diversidad genética de la corvina de la RBAGCyDRC.

Especie	n	nH	V	S	Ts	Tv	$InDels$	Razon nH/n	H (<i>s.d</i>)	Π_n (<i>s.d</i>)
G03: Corvina golfina	92	23	25	25	14	11	3	0.250	0.688 (0.054)	0.004 (0.003)
G01: Corvina rayada	42	31	33	33	28	5	2	0.738	0.986 (0.009)	0.016 (0.009)

NOTA: n representa el número de individuos analizados, nH el número de haplotipos, V el número de sitios variables en la secuencia, S el número de sustituciones nucleotídicas, Ts el número de transiciones, Tv el número de transversiones, $InDels$ el número de inserciones/deleciones, H la diversidad haplotípica, *s.d.* la desviación estándar y π_n la diversidad nucleotídica.

7.3.2. Diversidad Genética del ADNn

Mediante el análisis de cinco *loci* de microsatélites, se detectaron un total de 11 alelos en los 35 individuos de la corvina rayada (*Cynoscion reticulatus*) de las costas del AGC, Baja California, México (**Tabla XI**).

En el caso de la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) de las costas del AGC, Baja California, México., el análisis de seis *loci* de microsatélites mostró la presencia de 14 alelos diferentes en los 35 individuos analizados (**Tabla XI**).

Tabla XI. Polimorfismo del genotipo multilocus del ADNn y diversidad genética de la corvina de la RBAGCyDRC.

Especie	<i>N</i>	<i>N_a</i>	<i>H_o</i>	<i>H_E</i>
G03: Corvina golfina	35	13.8	0.7371	0.7831
G01: Corvina rayada	35	11.4	0.7657	0.7640

NOTA: *N* representa el número de individuos analizados, *N_a* el número de alelos, *H_o* la heterocigosis observada y *H_E* la Heterocigosis esperada.

Los valores de diversidad genética molecular del ADNn (número de alelos e individuos heterocigóticos) muestran que la especie con menor diversidad es la corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*) (**Tabla XI**).

En términos generales los valores de diversidad genética molecular tanto del ADNmt como del ADNn nos dicen que la especie con menor diversidad es la corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*) (**Tabla X y XI**).

7.4. Estructura Genética

7.4.1. Estructura genética de la corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*): ADNmt

Los análisis de estructura poblacional entre las corvinas de San Felipe (SF) y Santa Clara (SC) se realizaron mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA). Para este análisis se calculó el estadístico F de Wright (F_{ST}) y su análogo Φ_{ST} . La significancia estadística del AMOVA se estimó con base en 10,000 permutaciones.

La estimación de diferenciación genética obtenida resultó de $F_{ST} = -0.005$ ($p = 0.5532 \pm 0.1799$). En cuanto a la partición de la varianza, se observó que cerca del 100.49% de ella fue explicada por las diferencias dentro de las localidades y -0.49% estuvo asociada con las diferencias entre localidades.

Dado que el método de distancia Kimura-2P es el que mejor se ajusta a los datos del presente estudio, se dará prioridad a los resultados obtenidos mediante esta aproximación. La estimación de diferenciación genética obtenida por este método resultó de $\Phi_{ST} = 0.0084$ ($p = 0.14663 \pm 0.01160$). En cuanto a la partición de la varianza, se observó que cerca del 99.16% de ella fue explicada por las diferencias dentro de las localidades y el 0.84% estuvo asociada con las diferencias entre localidades.

Los índices empleados F_{ST} y Φ_{ST} del AMOVA resultaron en valores muy bajos y no significativos de diferenciación genética. En resumen, el análisis de estructura sugiere la existencia de una población continua y homogéneamente distribuida por un flujo genético intenso entre las localidades que limita el establecimiento de estructura genética entre SF y SC.

Este resultado es congruente con lo sugerido por el árbol filogenético y la red de la mínima dispersión (**Figura 9 y 12 respectivamente**), que corroboran la ausencia de estructura poblacional. No obstante, se hace notoria la presencia de haplotipos exclusivos a cada localidad.

7.4.2. Estructura genética de la corvina golfina (G03:*Cynoscion othonopterus*): ADNn

Las corvinas de localidad de San Felipe BC., presentan valores de heterocigosis similares a los que presentan las de la localidad de Santa Clara Son (**Tabla XII**).

Tabla XII. Estadísticos descriptivos para cada una de las dos localidades analizadas para determinar la diversidad genética de corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*) de las muestras de la RBAGCyDR de Baja California, México.

Población	<i>N</i>	<i>N_a</i>	<i>H_o</i> (S.D)	<i>H_E</i> (S.D)
Santa Clara	17	10.60	0.7176 (0.0488)	0.7975 (0.0892)
San Felipe	17	9.40	0.7416 (0.0475)	0.7622 (0.0969)
Global	34	13.20	0.7294 (0.0341)	0.7795 (0.0940)

NOTA: *N* número de individuos analizados, *N_a* número de alelos, *H_o* proporción observada de heterocigotos y *H_E* proporción esperada de heterocigotos y s.d. la desviación estándar.

La estimación de diferenciación genética obtenida resultó de $F_{ST} = -0.00164$ ($p = 0.61832$ +/- 0.00553). En cuanto a la partición de la varianza, se observó que cerca del 100.16% de ella fue explicada por las diferencias dentro de las localidades y menos del -0.16% estuvo asociada con las diferencias entre localidades.

La estimación de diferenciación genética obtenida para el $R_{ST} = -0.013$ ($p = 0.79218 \pm 0.00390$). En cuanto a la partición de la varianza, se observó que más del 100% de ella fue explicada por las diferencias dentro de las localidades y menos del 0% estuvo asociada con las diferencias entre localidades.

Independientemente del índice empleado del AMOVA, los valores resultaron muy bajos y no significativos de diferenciación genética. Por lo tanto, el análisis de estructura del ADNn, también sugiere la existencia de una población continua y homogéneamente distribuida.

Los resultados de los índices de diferenciación genética del ADNmt y ADNn resultado son congruentes y pueden explicarse por el hecho de que a pesar de la presencia de haplotipos y/o genotipos exclusivos a cada localidad, los haplotipos/genotipos mayormente representados se encuentran homogéneamente distribuidos a lo largo del área de estudio.

7.5. Demografía Histórica

7.5.1. Demografía Histórica ADNmt

7.5.1.1. *Corvina Golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*)*

Dado que no se encontraron diferencias significativas entre localidades según el examen de estructura genética, se procedió a realizar el análisis de la historia demográfica con base en la distribución de frecuencias del número de diferencias nucleotídicas pareadas y la prueba de neutralidad de Tajima considerando que todos los individuos muestreados forman parte de una sola población.

Se encontró una distribución de las frecuencias del número de diferencias pareadas observadas sesgada al eje de las ordenadas (**Figura 11**).

Los resultados de las pruebas de expansión demográfica a través de la sumatoria de las diferencias cuadradas (Sumatory of square differences SSD), entre la distribución de frecuencias observada y la esperada bajo la hipótesis de expansión, sugieren que la población no presenta huellas demográficas de expansión al no detectarse diferencias significativas entre ellas. Por su parte, el índice de neutralidad de Tajima fue negativo y significativo (**Tabla XIII**), por lo que puede inferirse una expansión demográfica (Schmidt y Pool, 2002).

La gráfica de la red de la mínima dispersión para la corvina golfina, no mostró polarización de los linajes de SF y SC. Por otra parte, mostró la ocurrencia de un solo haplotipo central del que deriva el resto y de abundancias disimiles (**Figura 12**).

El comportamiento de la curva DFP (**Figura 11**) y la gráfica del MSN (**Figura 12**), como lo encontrado por el encontrado por el índice de neutralidad de Tajima (**Tabla XIII**) denotan una población con huellas de expansión en algún momento de su historia evolutiva. Es importante mencionar que al efectuar el análisis para cada localidad, el valor de SSD obtenido para SC fue estadísticamente significativo y mucho más alto que en SF (**Tabla XIII**).

Tabla XIII. Valores de SSD y del índice D de Tajima, con sus correspondientes valores de significancia, para las muestras de corvina golfina de las costas del AGC, México.

	D	$p (D \text{ sim} < D \text{ obs})$	SSD	$p (Sim \text{ SSD} \geq Obs \text{ SSD})$
G03: Corvina Golfina	-2.360	0.001	0.001	0.640
G01: Corvina Rayada	-0.946	0.174	0.003	0.420

7.5.1.2. Corvina Rayada (G01: *Cynoscion reticulatus*)

Se realizó el análisis de la historia demográfica con base en la distribución de frecuencias del número de diferencias nucleotídicas apareadas (DFP) y la prueba de neutralidad de Tajima (D).

Se encontró una distribución central de las frecuencias del número de diferencias apareadas observadas (**Figura 11**). Los resultados de las pruebas de expansión demográfica a través de la sumatoria de las diferencias cuadradas (SSD), entre la distribución de frecuencias observada y la esperada bajo la hipótesis de expansión, sugieren que la población no presenta huellas demográficas de expansión al no detectarse diferencias significativas entre ellas (**Tabla XIII**).

Por su parte, el índice de neutralidad de Tajima fue negativo y no significativo (**Tabla XIII**), por lo que puede inferirse un equilibrio demográfico (Schmidt y Pool, 2002).

Se decidió complementar estas pruebas con la gráfica de la red de la mínima dispersión, pues si bien esta figura no tiene solidez estadística, muestra visualmente la dispersión de los haplotipos y según la configuración que estos tomen se evidencia la historia evolutiva de la población. La red no mostró la ocurrencia de un solo haplotipo central del que deriven el resto. Además, muestra la presencia de muchos haplotipos de abundancias similares (**Figura 12**).

Tanto el comportamiento de la curva DFP (**Figura 11**) y la gráfica del MSN (**Figura 12**), como lo encontrado por el índice de neutralidad de Tajima (**Tabla XIII**) denotan una población grande y estable con equilibrio demográfico a lo largo de la historia evolutiva de la población.

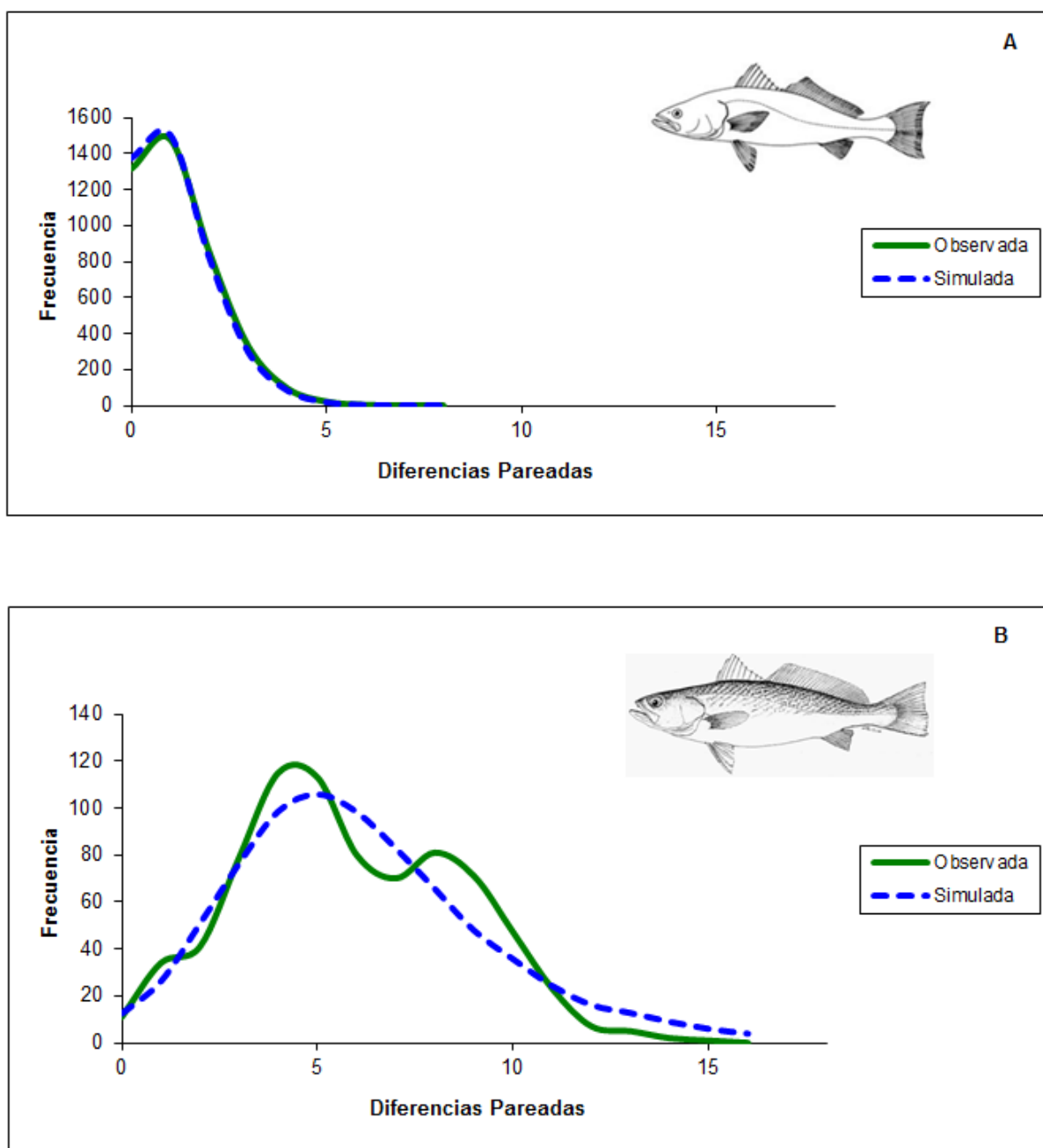


Figura 11. Distribución de diferencias pareadas observadas con las esperadas, bajo un escenario de expansión demográfica para A: Corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*) y B: Corvina rayada (G01: *Cynoscion reticulatus*).

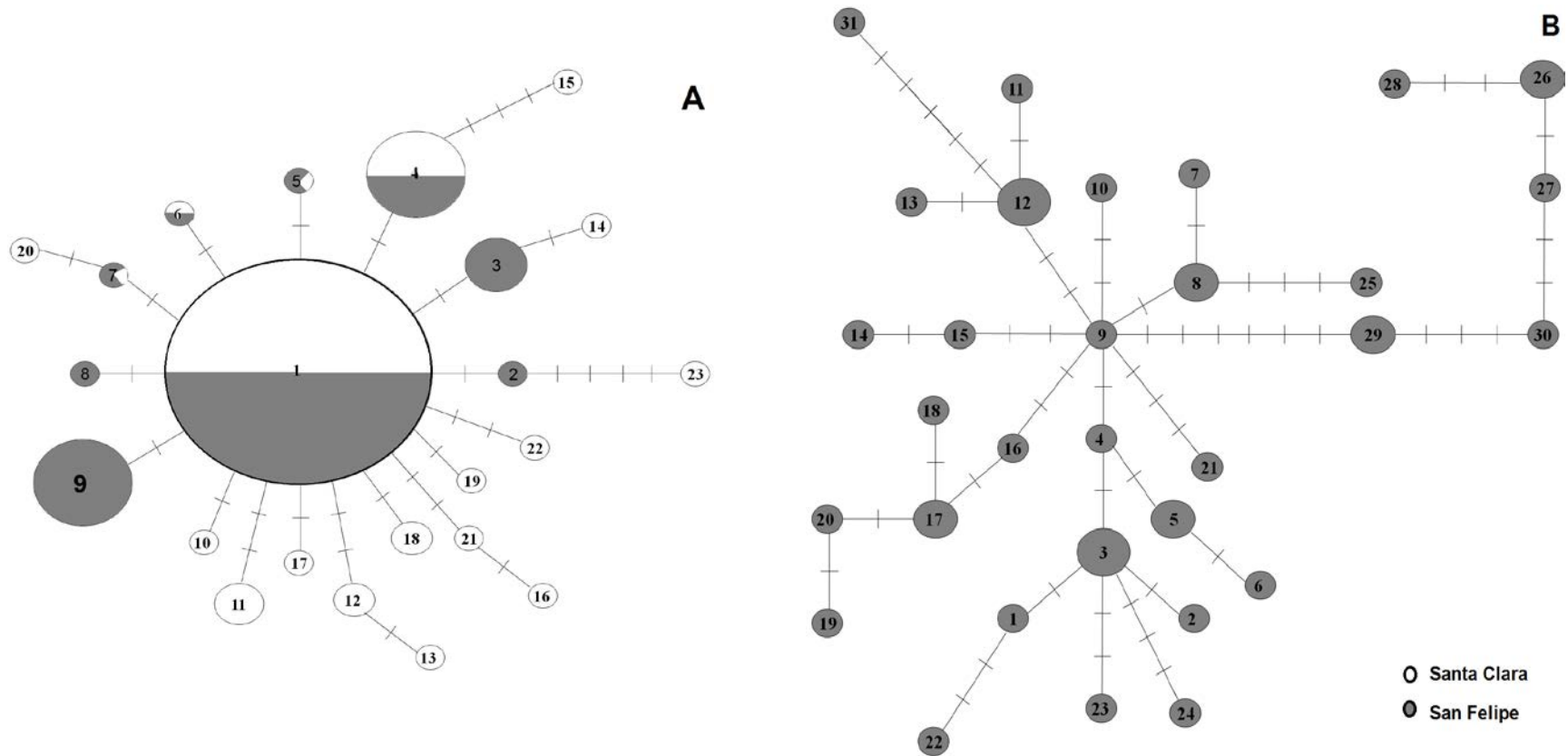


Figura 12. Red de la mínima dispersión (MSN) para los linajes mitocondriales de corvina golfincha (A) y rayada (B) de las costas del AGC (B.C., México). Los círculos denotan los haplotipos y su tamaño es proporcional al número de individuos que presentan cada linaje. Las líneas interconectan los linajes representando las relaciones filogenéticas y las líneas perpendiculares corresponden al número de sustituciones nucleotídicas. Los números designan a los linajes (p.e. 1 = G01H01, 2 = G01H02; 1 = G03H01, 2 = G03H02, etc.).

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

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

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

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

Según los valores encontrados de diversidad haplotípica (H) y nucleotídica (π_n), la corvina golfina cae dentro de la segunda categoría, mientras que la corvina rayada cae dentro de la cuarta categoría. Debido a que en su análisis, Grant y Bowen no especifican intervalos de confianza para cada categoría, se realizó un análisis discriminante con los valores de diversidad haplotípica (H) y nucleotídica (π_n) reportados por estos y otros autores (**Tabla XIV, Figura 13**).

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

		Categoría 1	Categoría 2	Categoría 4
	% CBC	15%	50%	35%
Categoría 1	100%	7	0	0
Categoría 2	100%	0	24	0
Categoría 4	77%	0	4	13
TOTAL	92%	7	28	13

NOTA: La categoría 3 se excluyó por ser típicamente de especies de aguas continentales. Donde %CBC es el porcentaje de casos bien clasificados dentro de la categoría pre asignada.

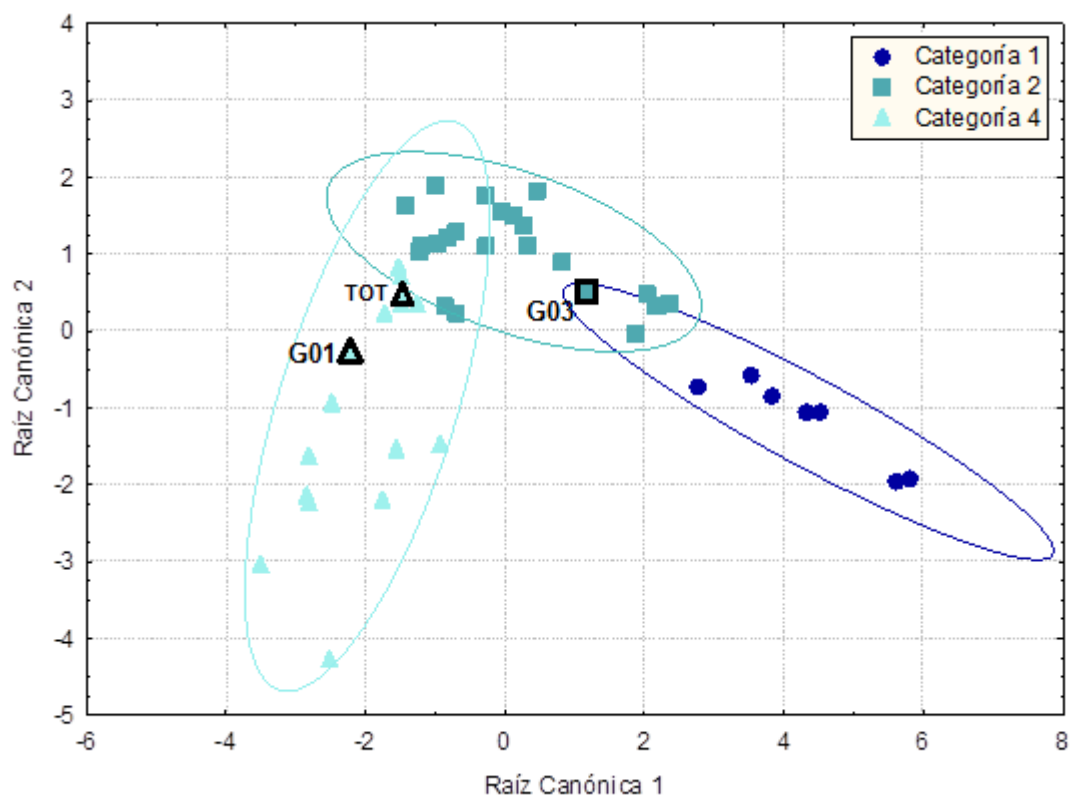


Figura 13. Dispersión bidimensional de acuerdo a los valores canónicos generados en el análisis discriminante. Las categorías a las que se hace referencia se basan en los criterios planteados por Grant y Bowen (1998). Donde G03: Corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*), G01: Corvina rayada (G01: *Cynoscion reticulatus*) y TOT: *Totoaba macdonaldi*. El resto de los puntos pertenecen a las raíces canónicas de otras especies (Anexo IV).

A pesar de que el análisis discriminante muestra un 14% de casos mal clasificados para la segunda categoría, ninguno de dichos casos corresponde a alguna de las especies identificadas en la pesquería de corvina en el presente estudio (**Tabla XV**).

7.5.2. Demografía Histórica ADNn

Los resultados de las pruebas estadísticas arrojados por el programa Bottleneck para las modelaciones de demografía histórica de la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*), no muestran una diferencia significativa entre la heterocigosidad esperada y la observada bajo el modelo de mutación de alelos infinitos (IAM). No obstante, las modelaciones realizadas bajo el modelo de mutación por pasos (SMM), marcan una diferencia significativa entre la heterocigosidad esperada y la observada.

Por su parte, en la corvina rayada (*Cynoscion reticulatus*), los resultados de ambas pruebas estadísticas (Sign test y Wilcoxon test) no evidenciaron diferencias significativas entre la heterocigosidad esperada y la observada bajo ninguno de los dos modelos de mutación considerados (IAM o SMM; **Tabla XVI**).

Tabla XVI. Pruebas Estadísticas para las modelaciones de demografía histórica en el supuesto de equilibrio mutación-deriva, de las poblaciones de sciánidos del AGC, B.C, México. Según los modelos de Mutación de Alelos Infinitos (IAM) y Mutación por Pasos (SMM).

	SIGN TEST		WILCOXON TEST	
	IAM	SMM	IAM	SMM
G03: Corvina golfina	0.333	0.011	0.063	0.031
G01: Corvina rayada	0.663	0.325	0.813	0.156

8. DISCUSIÓN

8.1. Identificación del recurso (Caracterización Molecular)

Aunque la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) representa un importante recurso económico, se ha reportado que dentro de esta pesquería existen otros organismos con poco valor comercial que son capturados incidentalmente. Gran parte de la captura incidental está representada por otras especies de corvinas con características morfométricas y merísticas muy similares.

El éxito de cualquier programa de conservación o la creación de políticas de manejo efectivas, dependen en gran medida de la información biológica y de las estadísticas de captura de la o las especies en cuestión (Román, 2000).

Desafortunadamente, la notable similitud en la morfología entre las especies de corvinas (desde los patrones de coloración hasta caracteres métricos en los que se basan las guías de identificación), representa un problema puesto que las relaciones intergenéricas del grupo son poco claras.

Por lo anterior, cualquier estrategia de uso o conservación de la corvina golfina que no tome en cuenta estos aspectos, podría no tener buenos resultados al estar basando las decisiones en información que no corresponde exclusivamente a la especie en cuestión, sino a varias especies; es decir, considerando una sola población cuando en realidad la pesquería se realiza sobre varias poblaciones y especies.

La filogenia del género *Cynoscion* no ha sido suficientemente estudiada, por lo que la diferenciación y la especiación esta escasamente documentada (Santos *et al.*, 2006).

En particular, la variabilidad genética de la corvina golfina es desconocida o existe poca información y además, hasta el momento no se había estudiado con detalle a las diferentes especies que caen dentro de la captura de su pesquería.

Por lo mismo, el presente análisis de la variabilidad genética de la población de la corvina golfina representa una primera aproximación en la evaluación genética de este recurso pesquero. Gracias al estudio de las muestras provenientes de la captura de esta especie con métodos genético-moleculares (Haplotipos del ADNmt y genotipos multilocus del ADNn) y con el apoyo de los criterios taxonómicos clásicos, se logró identificar que al menos otra especie representa un importante porcentaje de la captura en esta pesquería y realizar una evaluación del porcentaje de captura de otras corvinas en la pesquería de corvina golfina.

Así, en el presente estudio se muestra, que al menos en San Felipe, la proporción de peces que no pertenece a corvina golfina pero que son morfológicamente similares, es muy alta (34.5%) y el que el 30.3% del porcentaje total de organismos capturados pertenezca a una sola especie (G01: *Cynoscion reticulatus* o Corvina rayada), es un llamado de atención que debe tomarse en cuenta para el manejo de la pesquería de San Felipe (**Tabla III**).

Una posible razón por la que no se tome especial precaución en la separación de la captura en San Felipe, es que la pesquería se realiza mayormente sobre las agregaciones reproductivas, con lo cual es considerada como pesca monoespecífica.

Confirmar que en la pesquería de corvina golfina de San Felipe se realiza no sobre una, sino sobre varias especies y el haber podido estimar la proporción en que se encuentran ambas en la captura, es una importante contribución que marca que las cuestiones relacionadas con la gestión de la pesquería de estos sciánidos deben ser reconsideradas, al mismo tiempo que, abre un importante debate sobre la legislación que actualmente se ejerce para la captura de estos recursos.

Así, estos resultados requieren la urgente atención de los responsables de las políticas de conservación y gestión de la pesquería, ya que para la implementación exitosa de programas de manejo, es fundamental la correcta identificación de las especies capturadas.

El hecho de que en Santa Clara no se hayan encontrado otras especies de corvinas en el producto que se prepara para comercializarse, podría ser indicio de que a diferencia de las Asociaciones pesqueras de San Felipe, en Santa Clara existe una buena separación de la captura objetivo y la incidental, dentro de la pesquería de corvina golfina. Otra alternativa, es que la corvina rayada presente patrones de migración o ciclos biológicos diferenciales a la corvina golfina, en los que su estancia en Santa clara sea baja o nula.

En base a esto último, es necesario mencionar que la distribución geográfica es una características ecológica fundamental en la diferenciación las especies, sin embargo, como se muestra en los resultados, la de identificación y clasificación de corvinas no es una tarea sencilla y ni las características ecológicas, ni las morfológicas permitieron distinguir el nivel taxonómico de cada una, ya que existe una fuerte discrepancia entre la clasificación arrojada por lo descrito por los pescadores, lo encontrado mediante las claves taxonómicas y lo encontrado por distintos marcadores moleculares.

A diferencia de la taxonomía tradicional y las identificaciones de los pescadores, las cuales no permitieron identificar sin ambigüedad a estas especies, los marcadores moleculares mostraron claramente la presencia de otras 3 especies, con una clara divergencia genética, lo que confirma la presencia de al menos cuatro especies dentro de la pesquería de corvina golfina en San Felipe, B.C (**Figuras 6, 7, 9 y 10; Tabla V**).

Debido a que el trabajo de Vergara-Chen y colaboradores (2009) es un estudio exclusivamente filogenético, en el que se incluye un gran número de especies del grupo *Cynoscion* (19 de las 24 especies), con el objetivo principal de proporcionar una base molecular para futuros estudios comparativos de este grupo, se consideró que la identificación/asignación más confiable de las muestras aquí analizadas sería la aportada por el análisis de las secuencias del Cit B (**Tabla V**).

Por otra lado, al evaluar las relaciones filogenéticas con los diferentes genes que se analizaron en el presente estudio, se observaron discrepancias en la topología de los árboles (**Figuras 6, 7 y 9**). Sin embargo, el análisis conjunto de la secuencia compuesta de los tres genes (**Figura 10**), resultó muy similar a la encontrada por usando exclusivamente el Cit B, en congruencia con otros estudios que sugieren que el Cit B es particularmente útil para análisis de la relación entre los taxones que recientemente divergieron en poblaciones o en especies, además de ser uno de los genes más estudiados en estudios de sistemática, filogeografía, comparaciones intergenéricas o interespecíficas y de diferenciación de especies (Santos *et al.*, 2003).

Las ambigüedades resultantes entre la identificación realizada por los pescadores y la identificación taxonómica a través de las guías disponibles actualmente, ponen en evidencia que los marcadores moleculares son más adecuados en la separación e identificación de las especies de corvinas, así como la necesidad de estudios más detallados sobre la taxonomía y filogenia de los sciánidos del AGC (**Tabla V**).

Dicha necesidad, podría satisfacerse a través de una evaluación más rigurosa con marcadores genéticos, logrando aportar información fundamental para conocer la diversidad y el estado actual de las poblaciones silvestres que están siendo explotadas por esta pesquería.

8.2. Diversidad Genética como herramienta para explorar la historia demográfica.

El que los valores de diversidad genética molecular tanto del ADNmt (*H* y *IIn*) como del ADNn (*N_a* e individuos heterocigóticos) fueran menores para corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*) que para corvina rayada (G01: *Cynoscion reticulatus*), refleja de manera indirecta una menor salud genética en la población de corvina golfina, por lo que requiere mayor atención en la elaboración de las estrategias de uso y conservación (**Tabla X y XI**).

La variabilidad genética mitocondrial encontrada para corvina golfina y corvina rayada de las costas del AGC puede compararse con valores de diversidad de especies filogenéticamente cercanas para obtener una aproximación general del estado poblacional de la especie y de su demografía. Esto pues, existen similitudes asociadas con la historia de vida de cada especie que influyen en la tasa de acumulación de sustituciones nucleotídica (Martin y Palumbi, 1993).

Entonces, si hacemos una analogía de los valores de variabilidad genética de las especies encontradas en el presente estudio, con los de otras especies filogenéticamente cercanas anteriormente estudiadas, vemos que los valores de diversidad de corvina golfina (*Cynoscion othonopterus* $H=0.688$, $\pi_n=0.004$) son similares a los valores de la corvina amarilla (*Cynoscion acoupa* $H=0.892$, $\pi_n=0.003$; *Rodríguez et al.*, 1992), sciánido explotado comercialmente cuya población es continua, genéticamente homogénea y de tamaño pequeño (Ver Anexo III; Grant y Bowen, 1998).

Comparando el escenario propuesto para corvina amarilla, primeramente vemos que a pesar de que existe presencia de haplotipos/genotipos de corvina golfina exclusivos en cada localidad, el hecho de que los haplotipos/genotipos mayormente representados se encuentren homogéneamente distribuidos, hace que los índices de diferenciación genética tanto del ADNmt como del ADNn, tomen valores bajos y no significativos que sugieren un flujo intenso de la especie entre San Felipe y Santa Clara que no permiten la formación de estructura genética. Además, el árbol filogenético y el MSN (**Figura 9 y 12**), coinciden con estos índices, sugiriendo que la población de corvina golfina es continua y esta homogéneamente distribuida, al igual que la corvina amarilla.

Es importante identificar si la pesquería se lleva a cabo en uno varios stocks para la gestión sostenible; el hecho de que sea una sola población genéticamente homogénea, facilita las convenciones políticas o administrativas (Pereira, 2009).

Las estimaciones del tamaño efectivo basadas en el ADNmt reflejan la demografía histórica, en lugar de tamaños contemporáneos. En cualquier caso, si aparecen tamaños pequeños de la población establecido por niveles bajos de la variabilidad genética, la población esta vulnerable a la sobreexplotación (Pereira, 2009).

Así, para conocer si la población de corvina golfina pudiera ser pequeña, podemos analizar los valores de diversidad genética mitocondrial obtenidos en este estudio, sabiendo que la disminución de la densidad poblacional puede ser causada por la pérdida de linajes maternos y generar una reducción en la variabilidad genética.

No obstante, también hay que tener en cuenta que una amplia varianza en el éxito reproductivo puede reducir el tamaño genético efectivo de la población sin realmente reducir su abundancia. Es decir, cuando crías de las especies de grandes agregaciones de desove presentan una tasa de éxito de supervivencia diferencial (hipótesis de concurso-posibilidad de adaptación) y por lo tanto, para un año determinado, la mayoría de los jóvenes reclutados se genera a partir de un número reducido de adultos. Sin embargo, estas fluctuaciones se traducen en bajos niveles de diversidad genética mitocondrial tanto de H como de π_n (Categoría 1; Grant y Bowen, 1998), que no es el caso para los valores encontrados en corvina golfina.

Así, una de las maneras en que podríamos ver una disminución en los niveles de abundancia de la población traducido en bajos valores de diversidad, sería en eventos de un cuello de botella reciente (Baker y Clapham, 2004). Por ello, se decidió hacer varios análisis demográficos.

Si analizamos los resultados de corvina golfina en las pruebas de expansión demográfica (SSD) (**Tabla XIII**), sugieren que la población no presenta huellas demográficas de expansión, lo cual no coincide con el índice de neutralidad de Tajima, la curva DFP y la gráfica del MSN que denotan una posible expansión demográfica en la población en algún momento de su historia evolutiva.

Para esclarecer el escenario demográfico del ADNmt más plausible para la corvina golfina, se consideraron las categorías propuestas por Grant y Bowen (1998). Los bajos valores de diversidad encontrados en corvina golfina (Tabla IV), caen dentro de la categoría de clasificación 2 de Grant y Bowen (1998).

Esto implica un evento de cuello de botella seguido de un rápido crecimiento poblacional en algún momento de su historia evolutiva, que haya permitido cierta acumulación de sustituciones nucleotídicas y coincide con lo encontrado por el índice de neutralidad de Tajima, la curva DFP y la gráfica del MSN (**Tabla XIII, Figura 11 y 12** respectivamente).

Por su parte, los patrones de demografía histórica basados en la distribución de frecuencias de alelos del ADNn de la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*) apoyan que la población ha experimentado una reciente reducción de su tamaño efectivo poblacional, pues muestra una reducción relativa de los números de los alelos y heterocigosis en los loci polimórficos (**Figura 14**). Este escenario está estadísticamente sustentado, por las pruebas Sign y Wilcoxon utilizando el modelo de Mutación por Pasos (SMM).

Es necesario mencionar que bajo el modelo de Mutación de Alelos Infinitos (IAM) no existe una diferencia significativa entre la heterocigosidad esperada y la observada según las pruebas estadísticas empleadas, con lo cuál la reducción del tamaño efectivo poblacional no estaría sustentada. No obstante, los microsatélites tienen más probabilidades de evolucionar a través de la SMM (Slatkin; Goldstein *et al.*, 1999) que bajo un escenario de alelos infinitos (IAM).

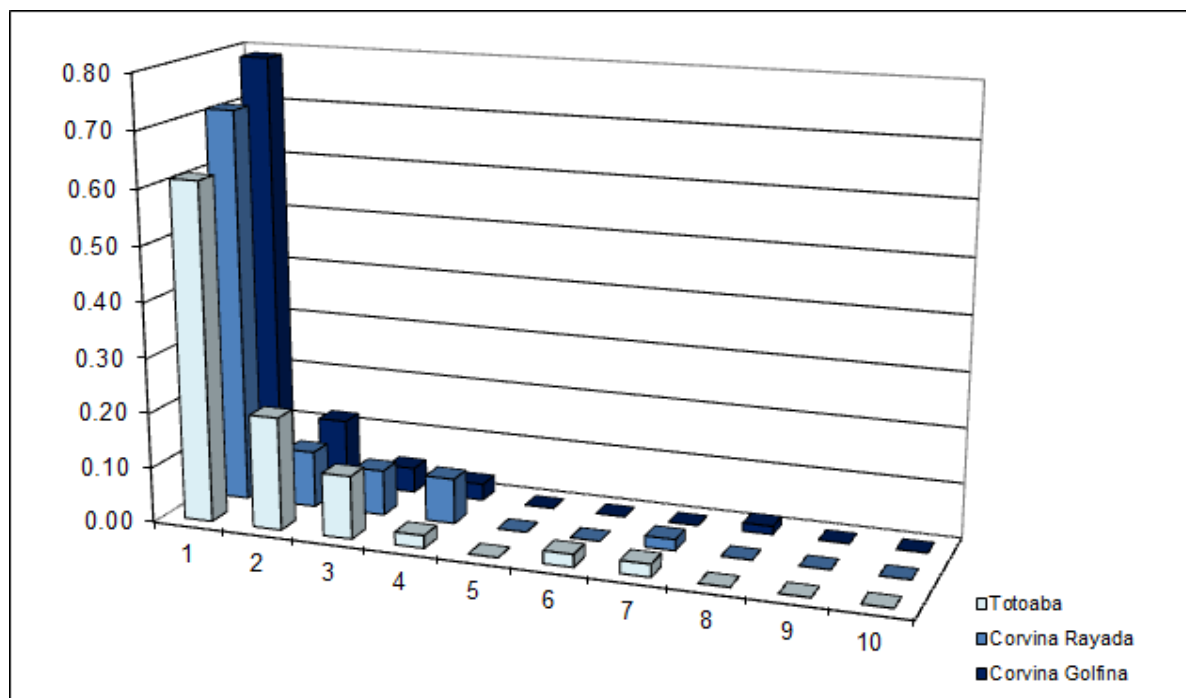


Figura 14. Distribución de frecuencias de alelos del ADNn de la corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*), corvina rayada (*Cynoscion reticulatus*) y totoaba (*Totoaba macdonaldi*) de las costas del AGC de Baja California (México). Donde el eje X muestra el número de alelos y el eje Y muestra los valores de exceso de heterocigosis según la distribución normal en forma de L.

El escenario planteado por ambos marcadores, también se vería sustentado por la historia pesquera de la población de corvina, en la que según versiones de los pescadores del Golfo de Santa Clara esta especie no se registró por 30 - 40 años y posteriormente resurge en la década de los 90's (Román, 2000).

A pesar de que se observa un incremento en los volúmenes de captura en los últimos años, los resultados de CPUE del trabajo de Román, indican que la producción de corvina por panga por día aumentó, pero igualmente aumento el número de pangas que ingresaron a la pesquería. Lo anterior es una evidencia de cómo el esfuerzo pesquero incrementó y esto puede estar ocultando la tendencia de la pesquería a caer en una sobreexplotación. Esto es, aparentemente la producción anual de corvina ha aumentado año con año sin considerar que el incremento en la flota pesquera favorecerá una producción más alta respecto al año anterior hasta un cierto límite y que de continuar así la tendencia en el incremento de la flota pesquera puede en algunos años colapsarse esta pesquería (Román, 2008). Además, el incremento en las capturas están aún muy por debajo en comparación con los picos máximos de captura registrados a principios del 2000 (**Figura 15**).

Así pues, si observamos el mapa de distribución geográfica (**Figura 16**), los valores de los índices de diferenciación genética, los valores de diversidad genética el escenario demográfico de la corvina golfina (ADNmt y ADNn) y la historia de la pesquería, podríamos deducir que la población de esta especie tiene el mismo escenario que el planteado por Rodríguez y colaboradores (1992) para corvina amarilla, que hace referencia a una población continua, genéticamente homogénea y de tamaño pequeño.

El hecho de que la población acabe de sufrir una reducción significativa en su tamaño, es de gran importancia para la conservación porque sería una población con mayor riesgo de extinción, pues en las especies amenazadas hay mayor propensión a aumentar las tasas de endogamia, a la pérdida de variación genética y a la fijación de alelos ligeramente deletéreos y reducir así su potencial de adaptación (Cornet y Liukart, 1996).

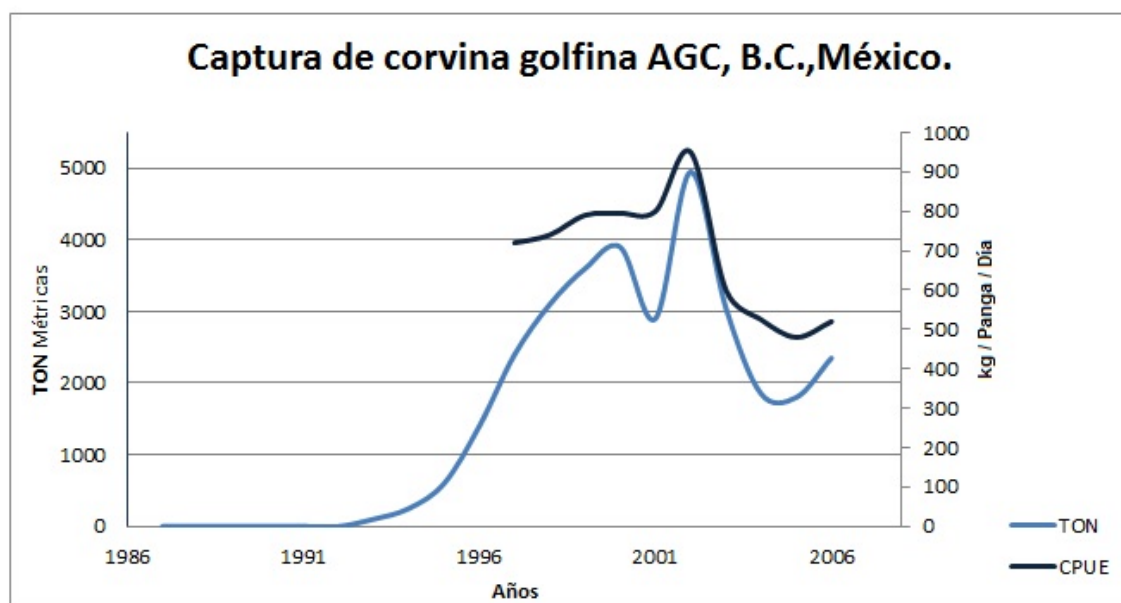


Figura 15. Captura de corvina golfina de las costas del AGC de Baja California (México) a través del tiempo. Tomado de Román-Rodríguez (2008).

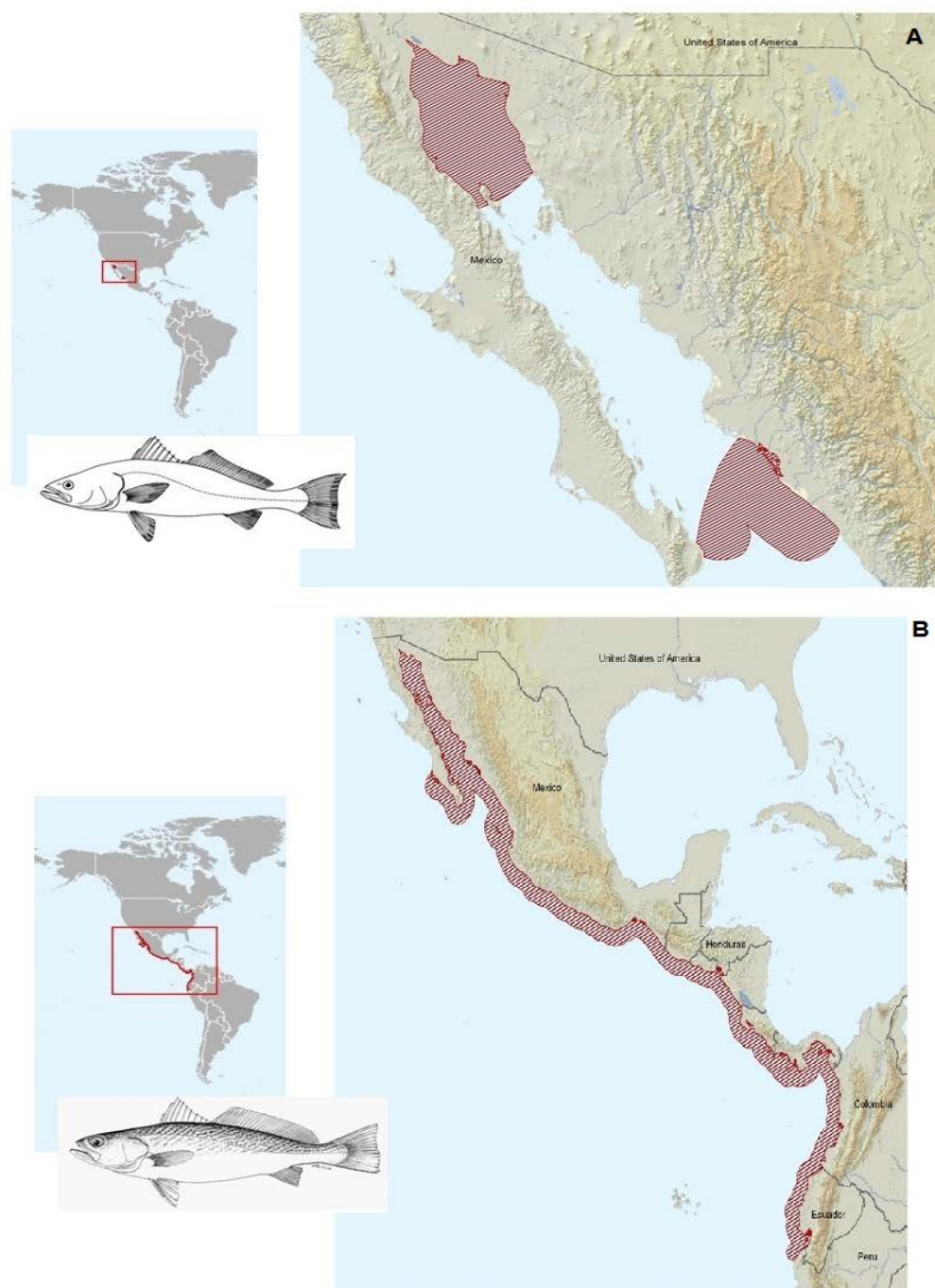


Figura 16. Distribución geográfica de la corvina golfinia y la corvina rayada. **(A)** De acuerdo con Chao (1995) la distribución de la corvina golfinia abarca desde la Región de La Paz, B.C.S. y el sur de Sonora, hasta el Delta del Río Colorado. Sin embargo, de acuerdo a los últimos registros confirmados, aparentemente se restringe a la porción norte del Golfo de California, alcanzando Puerto Peñasco, Sonora y las Islas Encantadas, Baja California. **(B)** Distribución de la corvina rayada. Mapas tomados de la lista roja de especies amenazadas (IUCN).

Desafortunadamente, la poca disponibilidad del recurso para ser monitoreado ha limitado los estudios, lo cual desfavorece las gestiones para definir una norma específica para la especie. Dado que en el decreto y posteriormente en el programa de manejo de la RBAGCDRC no se especifica de manera explícita regulación alguna para esta pesquería dentro de la Reserva, las autoridades competentes consideran no tener elementos suficientes para emitir una norma exclusiva para la especie.

Por su parte, los valores de corvina rayada (*Cynoscion reticulatus* $H=0.986$, $\pi_n= 0.016$) son similares a los valores de diversidad de corvina roja (*Sciaenops ocellatus* $H=0.950$, $\pi_n= 0.025$; Seyoum *et al.*, 2000), especie explotada comercialmente pero cuyas poblaciones presentan una marcada estructura genética y son muy abundantes (Ver Anexo III; Grant y Bowen, 1998). De igual forma, los valores de corvina rayada son similares a los de totoaba (*Totoaba macdonaldi* $H=0.962$, $\pi_n= 0.013$; Enríquez *et al.*, Datos no publicados), también especie explotada comercialmente, pero que está considerada como en amenaza o en peligro de extinción por la IUCN⁵, CITES⁶ y NOM-059⁷ (ver **Anexo III**; Grant y Bowen, 1998).

Para saber si la población de corvina rayada (*Cynoscion reticulatus*) presenta un escenario similar al de la corvina roja o al de totoaba, se discutirán poco a poco los resultados encontrados. Primeramente, no podemos saber si la población esta genéticamente estructurada, ya que necesitaríamos muestrear varias localidades que sean representativas de lo largo de su distribución (**Figura 16**).

⁵ IUCN: The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1.

<http://www.iucnredlist.org>

⁶ CITES: Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres

<http://www.cites.org>

⁷ NOM: Norma Oficial Mexicana (NOM 059-SEMARNAT-2001).

Sin embargo, podemos analizar los resultados de las pruebas de expansión demográfica del ADNmt (SSD, **Tabla XIII**), que sugieren que la población no presenta huellas demográficas de expansión, lo cual coincide con el índice de neutralidad de Tajima, la curva DFP y la gráfica del MSN (**Tabla XIII, Figuras 11 y 12** respectivamente), que denotan una población grande y estable con equilibrio demográfico a lo largo de la historia evolutiva de la población. Esto coincide con los altos valores de diversidad encontrados en corvina rayada, que son más comunes para el caso de poblaciones grandes y estables con una larga historia evolutiva según los escenarios propuestos por Grant y Bowen (1998).

Por su parte, los patrones de demografía histórica basados en la distribución de frecuencias de alelos del ADNn en forma de L evidencian un equilibrio mutación-deriva, descartando una reciente reducción en su tamaño efectivo poblacional (**Figura 14**).

Por último, analizando la distribución geográfica de la corvina rayada (**Figura 16**) y teniendo en cuenta que su explotación pesquera es baja y se practica solo en algunas zonas de toda su distribución (lo que generaría un menor impacto en la salud genética de la población), podríamos deducir que el escenario propuesto por Seyoum y colaboradores (2000) para corvina roja es el mismo que presenta la población de corvina rayada.

Por el contrario, el escenario que plantea la IUCN para totoaba, se sale completamente de los parámetros encontrados para especies como corvina rayada y corvina roja. No obstante, cabe mencionar que el último estudio genético molecular realizado para totoaba por Enríquez y colaboradores (2008),

plantea para la especie un escenario en el que a diferencia de lo reportado anteriormente, la población de totoaba es grande y estable con una larga historia evolutiva, lo cual concuerda a su vez, con el escenario propuesto por Grant y Bowen (1998) para especies con valores similares de diversidad genética molecular.

Resulta interesante hacer la observación de que la totoaba (*Totoaba macdonaldi*) es una especie que se encuentra actualmente protegida y de la cual se tiene prohibida su pesca, aun presentando valores de diversidad que la colocan en un escenario demográfico estable según los resultados encontrados por Enríquez y colaboradores (2008). Dichos valores de diversidad son mucho más altos que los que presenta corvina golfina, cuya diversidad es tan baja que según Grant y Bowen (*op cit.*) es una población que aún no llega a su equilibrio demográfico.

Para finalizar con la observación, la corvina golfina a diferencia de totoaba, no cuenta con un programa de manejo sustentable o protección especial, pues si bien esta protegida por la NOM, no se encuentra enlistada como críticamente amenazada o en peligro de extinción sino como una especie vulnerable.

Comparando los resultados encontrados para ambas especies, vemos que la diversidad genética de la corvina golfina es baja y mucho menor a la de corvina rayada y que su rango de distribución es mucho más reducido, se esto, se puede inferir que la densidad demográfica de corvina golfina es por ende mucho menor la de corvina rayada. Una evidencia que apoya que la densidad demográfica de corvina golfina es menor la de corvina rayada, resulta de la

comparación de la razón del número de haplotipos con respecto al número de individuos muestreados de estas especies (Razón= 0.25 y 0.74 respectivamente), con respecto a la de *Sciaenops ocellatus* (n= 209 nH= 134 Razón= 0.64) (Seyoum *et al.*, 2000), cuya población reproductora ha sido estimada en 14 millones de individuos aproximadamente.

Cabe mencionar, que los escenarios demográficos anteriormente planteados son solamente un panorama de la demografía histórica poblacional de centenas a miles de años (ADNmt) o decenas de años (ADNn), por lo que de ninguna forma hablan del tamaño actual de la población.

8.3. Recomendaciones

¿Qué consideraciones deberían tomarse en cuenta para la creación de estrategias de manejo de la pesquería de corvina golfina?

La administración y gestión de las especies encontradas dentro de la pesquería de corvina golfina, puede ser mejorada llevando a cabo estudios básicos que contribuyan al conocimiento de su biología, ecología y dinámica poblacional, para que en corto plazo estos estudios sean integrados a propuestas que permitan normar las pesquerías y del mismo modo apoyen el planteamiento de estrategias de uso, que aseguren un aprovechamiento ordenado y sustentable, así como la conservación de las especies.

No obstante, se recomienda que se tome como prioridad realizar más estudios enfocados a la gestión de corvina golfina, puesto que además de ser una especie endémica y de gran interés comercial, su población está más vulnerable a la sobreexplotación.

Esto pues, ambos marcadores ADNmt y ADNn, coinciden en plantear un escenario de cuello de botella para su población. Si bien, la magnitud de ese cuello y el impacto sobre la abundancia del recurso se desconocen, estos pueden estimarse a través de un análisis de las capturas y de tallas. No obstante, esto llevaría bastante tiempo y se necesitaría garantizar la correcta identificación del recurso, es por ello que una mejor opción pudiera ser el uso de modelos genéticos para estimar tamaños poblacionales.

Desafortunadamente, los modelos que permiten el uso de estos marcadores para estimar el tamaño efectivo histórico y actual de las poblaciones, requieren de una mayor cantidad de datos de los que se carece en el presente estudio.

Por un lado, para usar secuencias del ADNmt como información base para estos modelos, se requiere conocer principalmente el tiempo de divergencia y tiempo generacional de la especie lo cual resulta complicado dada la escasez de los estudios biológicos de la especie y la poca fiabilidad de los mismos dada la problemática de su identificación. Mientras que por otro lado, para usar genotipos multilocus del ADNn como información base para estos modelos, se requiere un muestreo de varias generaciones usando un mayor número de microsatélites, que además de permitir distinguir claramente la especie, daría información sobre los cambios en las frecuencias alélicas y por ende de la magnitud del tamaño efectivo de la población.

Así, la posibilidad de hacer un muestreo anual o periódico en las mismas localidades y durante la época de reproducción de la especie, (que es cuando se encuentra más accesible para la pesca y monitoreo) permitiría realizar un seguimiento y evaluar más detalladamente cada una de las especies, para analizar la genética poblacional con estos marcadores. También, se podría

hacer una aproximación de la abundancia histórica del recurso (N_e basado en el ADNmt o ADNn) y contrastarla con la abundancia actual aproximada (N_e basado en el ADNn).

Conocer la talla efectiva de la población (N_e), es una manera de obtener información demográfica muy relevante para que uno pueda predecir las consecuencias evolutivas de una población de determinado tamaño. Por ello, conocer N_e ha resultado de gran interés en la biología de la conservación pues nos permite determinar la tasa de pérdida de variabilidad genética, así como la tasa de incremento de endogamia en una población (Hoelzel, 1992).

No obstante, con la información con la que se cuenta hasta el momento se pueden hacer algunas observaciones y recomendaciones.

Aunque el volumen capturado se ha incrementado en los últimos años, también así lo ha hecho el esfuerzo pesquero (Román, 2000), por lo que no debe esperarse a que se alcance una caída drástica en estas producciones para hacer las evaluaciones pertinentes y tomar las medidas de manejo y conservación adecuadas. Esto, es motivo suficiente para respaldar la propuesta de emitir una norma exclusiva para la pesquería de la especie, porque si bien, el hecho de que una especie sea endémica no excluye que pueda ser explotada, también obliga a la consideración de su endemismo como un factor de suma importancia para limitar el esfuerzo pesquero sobre sus poblaciones.

Por otro lado, dado que el análisis filogenético basado tanto secuencias de ADNmt como de ADNn, reveló la presencia de varias especies dentro de la comercialización de “corvina golfina” en San Felipe, B.C, México y teniendo en cuenta el hecho de que no existen estrategias de gestión que se hayan implementado para cada especie presente dentro de la pesquería de corvina golfina, y que las especies presentes tienen escenarios de salud genética muy

distintos, se recomienda establecer regímenes de explotación independientes para cada una de las especies identificadas para lograr una gestión eficaz y preservar la integridad genética de cada una de las poblaciones. Evidentemente, para poder lograr este objetivo, se necesitarían más estudios tanto de la biología de cada especie como de su salud genética poblacional, para poder establecer criterios de diferenciación de las especies que caen dentro de las capturas.

Las recomendaciones de este estudio se basan en los resultados encontrados por dos tipos de marcadores. Hasta la fecha, tanto las secuencias del ADNmt como del ADNn, han sido utilizadas exitosamente para proporcionar datos críticos necesarios para el manejo de pesquerías. Así, estas observaciones están potencialmente reforzadas, no obstante, es recomendable hacer estudios posteriores en los que se aumente el número de localidades muestreadas y se haga un seguimiento temporal de las capturas a través de marcadores moleculares, ya que, tal vez sea la única forma de conocer la composición real de las capturas.

Finalmente, se recomienda un mayor esfuerzo, de autoridades y grupos organizados, para encontrar soluciones al manejo de la Reserva, para generar un programa que permita la recuperación de las especies y que eleve la calidad de vida de los pescadores. Para que con ello, se garantice un equilibrio entre la pesca y la calidad de vida de los pescadores, logrando una gestión sustentable en las pesquerías del Alto Golfo de California.

9. CONCLUSIONES

- Las claves taxonómicas resultan insuficientes para la identificación de las diferentes corvinas del AGC, dado que, los caracteres diagnósticos en los que se basan las guías de identificación de estas especies, son completamente idénticos o se superponen, generando identificaciones ambiguas. Por el contrario, todos los marcadores moleculares empleados sirvieron para diferenciar las especies, no obstante, solo el Cit B fue de utilidad para la identificación.
- El análisis filogenético basado tanto secuencias de ADNmt como de ADNn, reveló la presencia de varias especies dentro del producto de comercialización de “corvina golfina” en San Felipe, B.C, México, a diferencia de Santa Clara, B.C, México, donde el producto de comercialización contenía una sola especie.
- Los análisis genético moleculares del ADNmt y del ADNn, evidencian que la población de corvina golfina (G03: *Cynoscion othonopterus*) es una población continua y homogéneamente distribuida, con baja diversidad molecular. Además de ser una población que sufrió un evento de cuello de botella en algún momento de su historia evolutiva y más recientemente experimentó una reducción en su tamaño efectivo. Por el contrario, la población de corvina rayada (G01: *Cynoscion reticulatus*) es grande y estable, con altos valores de diversidad molecular. Además, de ser una población con un equilibrio demográfico a lo largo de su historia evolutiva.

- Los marcadores moleculares utilizados, proporcionan una base en el estudio de la diversidad genética en poblaciones de corvinas, que tendrá aplicaciones para la evaluación del impacto de las pesquerías sobre la diversidad genética silvestre de estos sciánidos que sirva para la gestión de la pesca.

10. REFERENCIAS

- Álvarez-Borrego, S., J.R. Lara-Lara y M.J. Acosta-Ruiz (1977). Parámetros relacionados con la productividad orgánica primaria en dos antiestuarios de Baja California. *Ciencias Marinas* 4(1):12-22.
- Aranguren-Mendéz, J.A., R. Román-Bravo, W. Isea, Y. Villasmil y J. Jordana. 2005. Los microsatelites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Producción Animal*. 13(1): 30-42.
- Arias Patrón, E. (2005). Plan de acción para el uso eficiente de agua dulce en el Golfo de California. Reporte técnico final para WWF. 64 pp.
- Avise, J.C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall, London. 551 pp.
- Castro-González J.J. (2004). Estudio base y estrategias de manejo de la pesquería del chano *Micropogonias megalops*, Caso de Estudio: Alto Golfo de California. Tesis de Maestría. UABC. Ensenada Baja California, México. 91pp.
- Cisneros-Mata M.A., G. Montemayor-López y M.J. Roman-Rodriguez (1995) Life History and Conservation of Totoaba Macdonaldi. *Conservation Biology* 9(4): 806-814.
- Cisneros-Mata, M.A. (2001). "Pesca y manejo pesquero en el Golfo de California" *Estudios Sociales* 11: 57-69.
- CONANP. (2004). "Respuesta a las observaciones de COFEMER al programa de conservación y manejo de la Reserva de la Biosfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado". Nota informativa 28 pp.
- Craig, M.T., F.J. Fodrie y P. Hastings (2004). The Nearshore Fish Assemblage of the Scripps Coastal Reserve, San Diego, California. *Coastal Management* 32: 341-351.

- Cudney, R. y P. J. Turk-Boyer (1998). Pescando entre mareas del Alto Golfo de California. México, Centro Intercultural de Estudios de Desierto y Océanos, Puerto Peñasco, Sonora. 166 pp.
- Chao, N.L. (2002). Sciaenidae. In: The living marine resources of the Western Central Atlantic. Volume 3: Bony fishes part 2 (Opistognathidae to Molidae), sea turtles and marine mammals. 1583-1639 pp.
- Chao, L.N (1995). Sciaenidae. Corvinas, barbiches, bombaches, corvinatas, corvinetas, corvinillas, lambes, pescadillas, roncachos, verrugatos in Guía Fao para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacifico centro- oriental. Volumen III. Vertebrados- Parte 2. Rome.
- Chapman R.W., A.O. Ball y L.R. Mash (2002). Spatial homogeneity and temporal heterogeneity of Red drum (*Sciaenops ocellatus*) Microsatellites: Effective populations sizes and management implications. *Marine Biotechnology*. Vol 4: 258-603.
- Delgado E., A.J.G. Ortega Ortiz y A. Sánchez Ríos (1994). Varamiento de mamíferos marinos durante primavera y otoño, y su relación con la actividad humana en el norte del Golfo de California, México. *Serie Zoología* 65(002): 287-295.
- DOF (2007). Diario Oficial de la Federación, Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales: "Decreto del Programa de Ordenamiento Ecológico Marino del Golfo de California". 2 pp.
- Doode S. y P. Wong (2001). "El Golfo de California: surgimiento de nuevos actores sociales, ambientalismo y región". *Estudios Sociales* 11: 25-56.
- Encinas (2008). Análisis del contenido estomacal de *Cynoscion othonopterus* (Jordan y Gilbert) En el alto golfo de california y delta Del río colorado. Tesis de Licenciatura del Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui. Son., México. 64pp.

- Enríquez, L., Y. Schramm, J. De la Rosa, J. Quezada, C.D. True y J.A. Galarza (2008). Identidad y demografía histórica de la población de totoaba *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) con base en sus niveles de diversidad genética mitocondria. Resúmenes del XI Congreso Nacional de Ictiología. La Paz, Baja California Sur, México (28-31 Octubre).
- FAO (1995). "Guía de Identificación de especies para los fines de la pesca del Pacífico Centro-Oriental". Vol. III: 1813 pp.
- Farias I., I. B. Muniz, S. Astolfi-filho and I. Sampaio (2006). Isolation and characterization of DNA microsatellite primers for *Cynoscion acoupa*, the most exploited sciaenid fish along the coast of Brazil. *Molecular Ecology Notes* 6:660-663.
- FFE (1996). Cuadernos para una sociedad sustentable: océanos, mares y zonas costeras. Fundación Friedrich Ebert, México, D.F. 125 pp.
- FSCPP (2009). Federación de Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera Ribereña del Puerto de San Felipe, S. de R.L. de C.V. Pesca Ribereña Multiespecífica Manifestación de Impacto Ambiental modalidad regional. 337 pp.
- García de León F. J., R. Valles-Jimenez, K. Shaw, R. Ward, J. A. de Anda Montañez and M. E. Martínez Delgado (2010). Characterization of fourteen microsatellite loci in the endemic and threatened totoaba (*Totoaba macdonaldi*) from the Gulf of California. *Conservation Genetics Resources* 2(1): 219-221.
- Goldstein, D.B. and C. Schlötterer (1999). Microsatellites: Evolution and Applications. Oxford University Press, New York, 368p.
- Harvey, B. (2001). Proceedings of the international workshop founded by UNEP and IDCR "Blue Millennium: Managing Global Fisheries for Biodiversity". Victoria, B.C. *Biodiversity and Fisheries*. 53 pp.

- Hernández, A. y W. Kempton (2003). Changes in fisheries management in México: effects of increasing scientific input and public participation. *Oc. Coast. Management* 46:507-526.
- Hoelzel A.R (1992). *Molecular genetic analysis of populations: a practical approach*. Oxford: Oxford University Press.
- Humedales, RAMSAR (2001). Ficha informativa de los Humedales de Ramsar: "Humedales del Delta del Río Colorado". 20 pp.
- Jordan, D.S. and Gilbert, C.H (1882). Description of thirty-three new species of fishes from Mazatlan, Mexico. *National Museum*. 4(1881).
- Lavín, M.F., y S. Organista (1988). Surface heat flux in the Northern Gulf of California. *Journal of Geophysical Research*. 93: 14033-14038.
- López, M.D., M.A. Uribe y J.P. Díaz (2010). Phylogeography and historical demography of the Pacific Sierra mackerel (*Scomberomorus sierra*) in the Eastern Pacific. *BMC Genetics*. 12pp.
- Martin, A.P. y S.R. Palumbi (1993). Body size, metabolic rate, generation time and the molecular clock. *Evolution* 90: 4087-4091.
- Martínez, M.J. y L.B.E. Flores (2009). CONANP: Boletín Informativo Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado. 4pp.
- Martins, C., A.P. Wasko, C. Oliveira y F. Foresti (2003). Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongates* from the Paraná River basin. *Genetics and Molecular Biology* 26.1: 33-38.
- Morgan, L., S. Maxwell, F. Tsao, T. Wilkinson, and P. Etnoyer (2005). Marine priority conservation areas: Baja California to the Bering Sea. Commission for Environmental Cooperation of North America and the Marine Conservation Biology Institute, Montreal. 132pp.
- Mosiño, P.A. y E. García (1974). "The climate of México". Chap 4 of climathes of North America, Elsevier Sci. Pub. Co. 345-391 pp.

- Musick, J. A., M. M. Harbin, S. A. Berkeley, G. H. Burgess, A. M. Eklund, L. Findley, R. G. Gilmore, J. T. Golden, D. S. Ha, G. R. Huntsman, J. C. McGovern, S. J. Parker, S. G. Poss, E. Sala, T. W. Schmidt, G. R. Sedberry, H. Weeks, and S. G. Wright (2000). Marine, estuarine and diadromous fish stocks at risk of extinction in North America (exclusive of Pacific salmonids). *Fisheries*. 25: 6–30.
- Mustafa, S. (1999). Genetics in sustainable fisheries management. Fishing news books. Malaysia. 225 pp.
- Nelson, J.S. (1994). Fishes of the World. 3rd ed. John Wiley and Sons, Inc., New York, 600 pp.
- Povh J.A., N.M. Lopera-Barrero, R.P. Ribeiro, E. Lupchinski Jr., P.C. Gomes, and T.S. Lopes (2008). Genetic monitoring of fish repopulation programs using molecular markers. *Ciencia e investigación agraria*. 35(1):5-15.
- Puchnick-Legat, A. y J.A Levy. (2006). Genetic Structure of Brazilian Populations of White Mouth Croaker *Micropogonias furnieri* (Perciformes: Sciaenidae). *Brazilian archives of biology and technology*. 49(3): 429-439.
- Quiroz, R. y A.S. Bracamonte (2008). Pertinencia de las ANP como política de conservación y mejoramiento de la calidad de vida: Análisis de percepción en la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado. *Estudios Sociales* 16:32.
- Regitano, L.C.A (2001). Introdução a análise de marcadores moleculares. Pages 25-39 In: Regitano, L.C.A. and L.L. Coutinho (eds.). Biología molecular aplicada a produção animal. EMBRAPA, Brasília, Brasil.
- Roberts C.M., C.J. McClean, J.E. Veron, J.P. Hawkins, G.R. Allen, D.E. McAllister, C.G. Mittermeier, F.W. Schueler, M. Spalding, F. Wells, C. Vynne and T.B. Werner (2002). Marine Biodiversity Hotspots and Conservation Priorities for Tropical Reefs. *Science* 295:1280-1284.

- Román Rodríguez, M. J. (2000). Estudio poblacional del chano norteño *Micropogonias megalops* y la curvina golfina *Cynoscion othonopterus* (Gilbert) (Pisces: *Sciaenidae*), especies endémicas del Alto Golfo de California, México. Instituto del Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable del Estado de Sonora. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. L298. México D. F.
- Román Rodríguez, M. J. (2008). Las pesquerías de la totoaba y la curvina: Historia natural, relación con los flujos del río y estrategias para su conservación y manejo. Presentación Informativa. 25pp.
- Ruiz, López D.M. (2009). Diagnóstico socioeconómico y evaluación de una estrategia de compensación al sector pesquero del Golfo de Santa Clara, Sonora. Tesis de Maestría. IPN. Guasave Sinaloa, México. 130 pp.
- SAGARPA (2005). ACUERDO por el que se establece veda temporal para la captura de corvina golfina (*Cynoscion othonopterus*), en las aguas marinas y estuarinas de jurisdicción federal de la reserva de la biosfera Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado. 2pp.
- SEMARNAT (2011). Diagnóstico de los problemas más intensos localizados en la UGA's de interés prioritario en el Golfo de California. 18 pp.
- Santos, S., H. Schneider y I. Sampaio (2003). Genetic differentiation of *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. *Genetic and Molecular Biology* 26(2): 151-161.
- Santos, S., T. Hrbek, I.P. Farias, H. Schneider y I. Sampaio (2006). Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in Atlantic coastal waters of South America: deep genetic divergence without morphological change. *Molecular Ecology* 15: 4361-4373.

- Selkoe K.A. and R. J. Toonen (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615-629.
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labelling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18: 233-234.
- Shimizu, M., N. Kosaka, T. Shimada (2002). Universal fluorescent labeling (UFL) method for automated microsatellite analysis. *DNA Research* 9: 173–178.
- Vergara-Chen, C., W.E. Aguirre, M. González-Wangüemert y E. Bermingham (2009). A mitochondrial DNA based phylogeny of weakfish species of the *Cynoscion* group (Pisces: Sciaenidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53: 602–607.
- WWF (2004). Diagnóstico de la pesca ribereña del estado de Sonora, México. Editado por J.A. Rodríguez Valencia, M. Rodarte Harispuru y M.A. Cisneros-Mata. Reporte Técnico para WWF. 32 p.
- WWF, INP y CONAPESCA (2005). Evaluación del impacto del establecimiento de un área de refugio para vaquita marina sobre la pesca artesanal de San Felipe B. C., El Golfo de Santa Clara y Puerto Peñasco, Son. México. Reporte Técnico para WWF. 14pp.
- WWF (2006). Conservación de la vaquita y su hábitat en el Alto Golfo de California. Reporte Técnico para WWF. 47 p.

Anexo I. Extracción y purificación de ADN

Buffer U Wasko et al., 2003 (50ml)

- 0.5 ml de Tris-HCl (10 mM pH 8)
- 0.365 gr de NaCl (125 mM)
- 1 ml EDTA (10 mM pH 8)
- 1.25 ml SDS 0.5%
- 12 gr Urea (4M)
- H₂O_{dde} UV (0.2 μM)

Solución amortiguadora de almacenamiento

- Tris-HCl 5% mM, pH 8.0
- EDTA 0.1 mM, pH 8.0

Procedimiento:

1. Cortar el tejido en fragmentos pequeños y pesar aproximadamente de 10 a 30 mg; colocar esta cantidad en un tubo de 1.5 ml estéril.
2. Agregar 400 μ l de la solución de Sales-U y homogeneizar con ayuda de un pistilo plástico estéril. El uso de una cantidad mayor de tejido requerirá de un mayor volumen de solución, por lo que se recomienda no colocar más de 30 mg.
3. Agregar 3 μ l de RNAsa (10 mg/ml).
4. Asegurarse que los tubos estén perfectamente tapados e incubarlos a una temperatura de 42° C por una hora.
5. Agregar 3 μ l de Proteinasa K (10 mg/ml).
6. Incubar a una temperatura de 42° C por 10 horas como mínimo (esto puede variar dependiendo del tipo de tejido).
7. Añadir 300 μ l de NaCl (6 M); agitar brevemente los tubos e incubar 5 minutos a temperatura ambiente.
8. Centrifugar a 10, 000 X g por 30 minutos.
9. Recuperar en un nuevo tubo de 1.5 ml entre 600 y 700 μ l de mezcla. Evitar acarrear *debris* del fondo o la nata que se forma sobre la mezcla de extracción.
10. Agregar 650 μ l de isopropanol al 99%, tapar el tubo, agitar vigorosamente durante al menos segundos e incubar a -70° C por 10 minutos.
11. Centrifugar a 12, 000 x g por 15 minutos.
12. Generalmente, puede apreciarse el ADN precipitado en el fondo del tubo. Decantar el alcohol cuidando que el precipitado no se despegue de la pared del tubo.
13. Agregar 500 μ l de etanol al 70% y centrifugar por 5 minutos a 12, 000 x g.
14. Decantar de nuevo el alcohol y dejar secando los tubos abiertos e invertidos sobre papel secante durante unos 5 minutos.
15. Secar en la centrifuga al vacío a 55-60° C por 15 minutos.
16. Resuspender el ADN en 30 μ l de solución amortiguadora de almacenamiento.
17. Guardar a 4° C si el ADN se va a utilizar inmediatamente o almacenar a -20° C.

Anexo II. Secuenciación del ADNmt

La secuenciación de ADN radica en una electroforesis capilar en la que los productos de la PCR se mezclan con un marcador estándar de peso molecular (GS-600LIZ) y se separan de acuerdo a su tamaño.

El láser del secuenciador, funciona a modo de escáner, detecta los fragmentos etiquetados con cada fluorocromo a una longitud de onda específica y determina el orden de los nucleótidos del fragmento analizado.

El software del secuenciador ordena las lecturas y hace un cromatograma en el que cada pico corresponde a la señal de un nucleótido marcado.

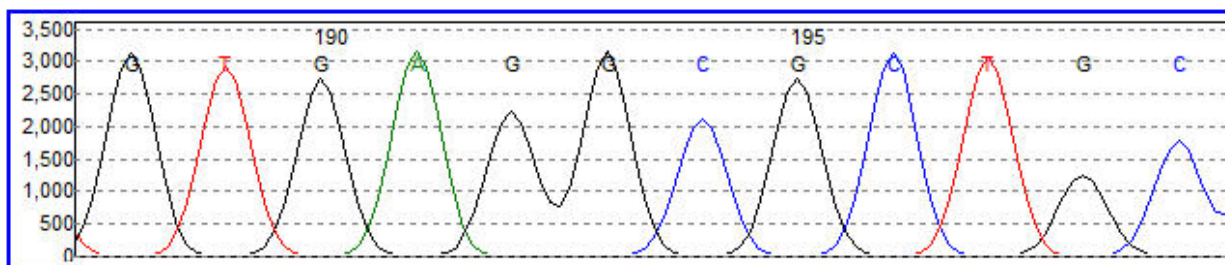


Figura A. Ejemplo de un fragmento de cromatograma generado por el software del secuenciador. La posición del pico a lo largo del eje de las abscisas corresponde a la posición del nucleótido en el fragmento analizado. El eje de las ordenadas hace referencia a la intensidad y corresponde a la cantidad de DNA marcado, es decir, a la concentración del fragmento marcado.

Anexo III. Amplificación de Microsatélites.

En el presente trabajo, se utilizó el protocolo de etiquetado universal fluorescente descrito por Schuelke (2000) y por Shimizu y colaboradores (2002).

Este sistema se basa en reacciones en cadena de la polimerasa impulsado por la secuencia de los cebadores específicos al organismo de estudio y un cebador "Forward" (Fwd) marcado con fluorescencia en su extremo 5'. La secuencia específica del cebador Fwd está diseñado con una región extra de reconocimiento universal (M13), no homologa a ninguna otra secuencia genómica del organismo de estudio. Las secuencias complementarias marcadas actúan como plantillas para el cebador "Reverse" (Rvs) marcado con un fluorocromo específico (6-FAM®, VIC®, PET® o NED®, Applied Biosystems) para que los productos puedan leerse por el secuenciador automático "Eppendorf Mastercycler" (Shimizu *et al.*, 2002).

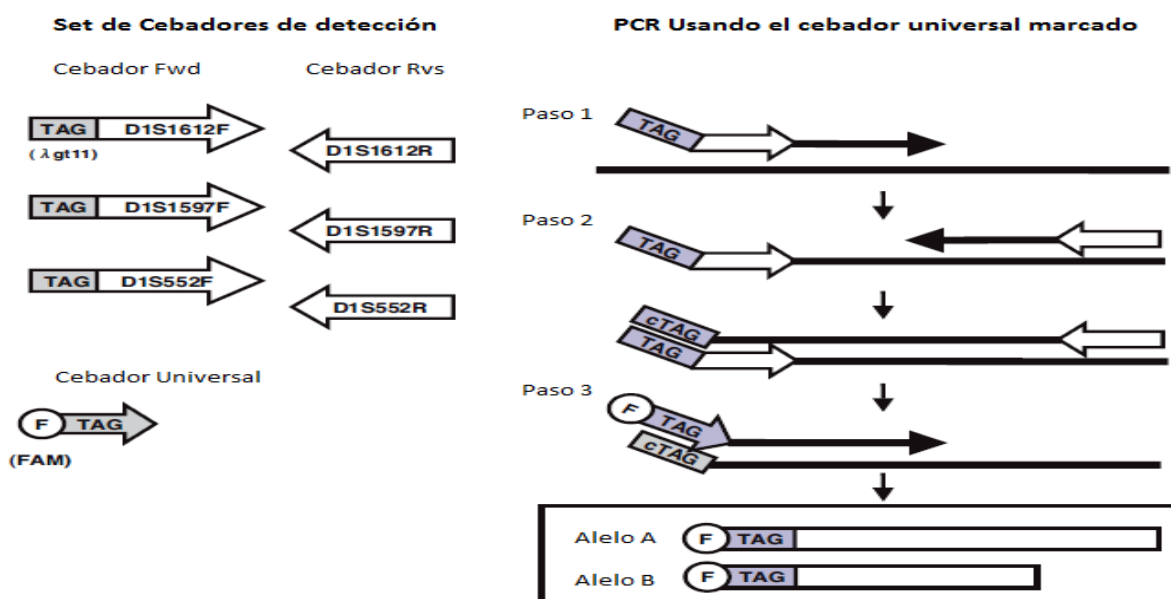


Figura B. Tomada de Shimizu y colaboradores, 2002. El cebador está diseñado con una secuencia de etiqueta en el extremo 5'. El producto de extensión del Rvs tendrá una etiqueta complementaria en su extremo 3'. El cebador fluorescente universal puede hibridarse a la secuencia etiquetada, y dado que el cebador universal no contiene ninguna secuencia genómica homologa al individuo de estudio, se hibridará sólo a los productos de extensión complementaria de la secuencia de cebadores específicos.

El genotipado es una electroforesis capilar durante la cual los amplicones se mezclan con un marcador estándar de peso molecular (GS-600LIZ) y se separan de acuerdo a su tamaño. Un láser integrado al secuenciador, funciona a modo de escáner detectando los fragmentos etiquetados con cada fluorocromo a una longitud de onda específica.

El software del secuenciador convierte los patrones de bandeo en un gráfico o cromatograma en el que cada pico corresponde a la señal de cada fragmento marcado. La posición del pico a lo largo del eje de las abscisas corresponde al tamaño del *locus* medido en pares de bases. El eje de las ordenadas hace referencia a la intensidad y corresponde a la cantidad de ADN marcado, es decir, a la concentración del fragmento marcado. Los cromatogramas generados por el secuenciador se almacenaron en formato electrónico hasta su procesamiento.

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

Nombre científico	Fuente Bibliografica	Grupo	H	π	R1	R2
<i>Pomatomus saltatrix</i>	Graves <i>et al.</i> , 1992	G1	0.1100	0.0007	5.8156	-1.9502
<i>Lutjanus campechanus</i>	Camper <i>et al.</i> , 1993	G1	0.1300	0.0013	5.6090	-1.9614
<i>Macruronus novaezelandiae</i>	Baker <i>et al.</i> , 1995.	G1	0.2800	0.0008	4.5291	-1.0719
<i>Gadus morhua</i>	Carr <i>et al.</i> , 1995.	G1	0.3000	0.0013	4.3319	-1.0636
<i>Gadus morhua</i>	Carr y Marshall 1991; Zwanenburg <i>et al.</i> , 1992.	G1	0.3600	0.0018	3.8341	-0.8441
<i>Sebastes capensis</i>	Rocha-Olivares <i>et al.</i> , 1999.	G1	0.4000	0.0016	3.5525	-0.5939
<i>Micropogonias undulatus</i>	Lankford <i>et al.</i> , 1999	G1	0.4700	0.0043	2.7728	-0.7498
<i>Thymallus articus</i>	Redenbach y Taylor, 1999.	G2	0.5600	0.0011	2.3975	0.3484
<i>Decapterus sp.</i>	Graves, 1998.	G2	0.5800	0.0018	2.1815	0.3177
<i>Istiophorus albicans</i>	Graves, 1998.	G2	0.5900	0.0040	1.8995	-0.0577
<i>Makaira nigricans</i>	Finnerty y Block 1992.	G2	0.6000	0.0016	2.0500	0.4623
Cynoscion G03	Este Trabajo	G2	0.6879	0.0040	1.1664	0.4642
<i>Makaira nigricans</i>	Finnerty y Block 1992.	G2	0.7400	0.0033	0.8385	0.8707
<i>Larabicus quadrilineatus</i>	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	G2	0.8000	0.0038	0.3407	1.0903
<i>Larabicus quadrilineatus</i>	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	G2	0.8000	0.0038	0.3407	1.0903
<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	G2	0.8200	0.0007	0.4819	1.7993
<i>Makaira nigricans</i>	Finnerty y Block 1992.	G2	0.8200	0.0029	0.2751	1.3711
<i>Tetrapturus audax</i>	Graves, 1998.	G2	0.8200	0.0030	0.2657	1.3516
<i>Thunnus albacares</i>	Graves, 1998.	G2	0.8400	0.0028	0.1342	1.4962
<i>Sebastes helvomaculatus</i>	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	G2	0.8570	0.0030	-0.0123	1.5470
<i>Larabicus quadrilineatus</i>	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	G2	0.8600	0.0054	-0.2604	1.0957
<i>Sebastes helvomaculatus</i>	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	G2	0.8620	0.0099	-0.6986	0.2304
<i>Sebastes helvomaculatus</i>	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	G2	0.8800	0.0099	-0.8338	0.3255
<i>Cynoscion acoupa</i>	Rodriguez <i>et al.</i> , 2008	G2	0.8920	0.0029	-0.2639	1.7552
<i>Makaira nigricans</i>	Graves, 1998.	G2	0.9100	0.0059	-0.6831	1.2625
<i>Larabicus quadrilineatus</i>	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	G2	0.9200	0.0064	-0.8052	1.2180
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Orti <i>et al.</i> , 1994.	G2	0.9300	0.0071	-0.9461	1.1345
<i>Larabicus quadrilineatus</i>	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	G2	0.9500	0.0079	-1.1716	1.0844
<i>Larabicus quadrilineatus</i>	Froukh <i>et al.</i> , 2007.	G2	0.9500	0.0082	-1.1998	1.0260
<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	G2	0.9700	0.0044	-0.9928	1.8713
<i>Anaocypris hispanica</i>	Alves <i>et al.</i> , 2001.	G2	1.0000	0.0065	-1.4156	1.6210
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	Gharrett <i>et al.</i> , 2001	G4	0.8000	0.0170	-0.9003	-1.4789
<i>Lates calcarifer</i>	Chenoweth <i>et al.</i> , 1998	G4	0.8230	0.0320	-2.4834	-4.2770
<i>Leoporinus elongatus</i>	Martins <i>et al.</i> , 2003	G4	0.8480	0.0220	-1.7310	-2.1986
<i>Scomber sp.</i>	Graves, 1998.	G4	0.8600	0.0190	-1.5391	-1.5513
<i>Pomatomus saltatrix</i>	Graves, 1998	G4	0.9200	0.0109	-1.2283	0.3421
<i>Sebastes helvomaculatus</i>	Rocha Olivares, <i>et al.</i> 1999	G4	0.9450	0.0116	-1.4819	0.3379
<i>Acipenser sinensi</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2003	G4	0.9490	0.0110	-1.4555	0.4758
<i>Atractoscion nobilis</i>	Ríos <i>et al.</i> , Datos no publicados	G4	0.9500	0.0113	-1.4913	0.4227
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Seyoum <i>et al.</i> , 2000	G4	0.9500	0.0250	-2.7793	-2.2439
<i>Atractoscion nobilis</i>	Ríos <i>et al.</i> , Datos no publicados	G4	0.9597	0.0102	-1.4607	0.6880
<i>Scomber japonicus</i>	Graves, 1998.	G4	0.9600	0.0248	-2.8356	-2.1521
<i>Totoaba macdonaldi</i>	Enriquez <i>et al.</i> , Datos no publicados	G4	0.9621	0.0127	-1.7119	0.2180
<i>Atractoscion nobilis</i>	Ríos <i>et al.</i> , Datos no publicados	G4	0.9715	0.0098	-1.5117	0.8282
<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	G4	0.9800	0.0192	-2.4594	-0.9565
<i>Rhinogobius maculafasciatus</i>	Cheng <i>et al.</i> , 2005.	G4	0.9800	0.0227	-2.7884	-1.6378
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Seyoum <i>et al.</i> , 2000	G4	0.9800	0.0300	-3.4748	-3.0586
Cynoscion G01	Este Trabajo	G4	0.9859	0.0160	-2.2010	-0.2986