

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS



**FENOLOGÍA DE LOS NACIMIENTOS, ESTADO DE SALUD DE
LAS CRÍAS, Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DE
Phoca vitulina richardii EN MÉXICO**

T E S I S

**QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

EVA MARÍA FERNÁNDEZ MARTÍN

ENSENADA, B.C., MÉXICO

ENERO 2018

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

DOCTORADO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y
BIOTECNOLOGÍA

FENOLOGÍA DE LOS NACIMIENTOS, ESTADO DE SALUD DE
LAS CRÍAS, Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DE
Phoca vitulina richardii EN MÉXICO

TESIS

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

DOCTOR EN CIENCIAS

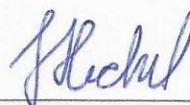
PRESENTA

EVA MARÍA FERNÁNDEZ MARTÍN

Aprobada por:



Dra. Yolanda Schramm Urrutia
Codirección



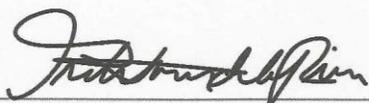
Dra. Gisela Heckel Dziendzielewski
Codirección



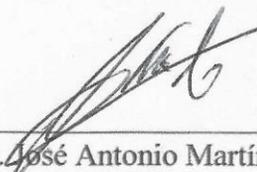
Dra. María de la Concepción García Aguilar
Sinodal



Dr. Alejandro Acevedo Gutiérrez
Sinodal



Dra. Gretel Torres de la Riva
Sinodal



Dr. José Antonio Martínez Alcalá
Sinodal

A la personita que ilumina mis días
Gael

RESUMEN

La foca común del Pacífico (*Phoca vitulina richardii*) en México es poco abundante, las colonias están en el margen meridional de su distribución mundial, y se encuentran considerablemente separadas en diferentes islas y algunos puntos en la costa continental. Todo esto hace que pueda ser altamente vulnerable a procesos estocásticos. Este estudio se realizó con el propósito de generar información ecológica necesaria para la conservación y el manejo de la foca común del Pacífico en México. Específicamente, se buscó comprobar si existen diferencias en la temporalidad de los nacimientos entre colonias que se encuentran a la misma latitud, y si estas diferencias se pueden explicar por ser colonias reproductivamente aisladas y/o por diferencias en la condición corporal de las madres, a través del estudio del estado de salud de las crías.

En **el primer capítulo**, "Fenología de los nacimientos de *Phoca vitulina richardii* en México", se tuvieron como objetivos: 1) determinar la temporalidad de los nacimientos de la foca común del Pacífico en los extremos de su distribución en México, Isla San Roque al sur e Islas Todos Santos al norte, examinando su variación latitudinal; 2) comparar dos colonias que se encuentran a la misma latitud, en el Estero de Punta Banda y en Islas Todos Santos; 3) examinar la variación temporal en el Estero de Punta Banda. Para ello se realizaron observaciones en Isla San Roque e Islas Todos Santos durante la temporada de cría de 2014, y en el Estero de Punta Banda en las temporadas de 2013 a 2016. Con el fin de describir la distribución temporal de las crías se aplicó el modelo de Rothery y McCann (1987). Se encontró un desfase entre la temporada de cría de las colonias; ocurrió primero en Isla San Roque, de finales de diciembre de 2013 a finales de marzo, y después en Islas Todos Santos, de finales de enero a principios de abril de 2014; con máximos a principios de febrero y principios de marzo, respectivamente. Entre estas colonias y otras más septentrionales de Estados Unidos se observó una clina de sur a norte. Sin embargo, la fecha media de nacimientos en el Estero de Punta Banda sucedió 27 días después que en Islas Todos Santos, pese a que ambas colonias se encuentran a la misma latitud. En el Estero de Punta Banda, al examinar datos de 2011 y 2012, de un estudio anterior, con los de este trabajo, se observó un retraso en los nacimientos durante la temporada de cría de 2014; mientras que en la temporada de 2015 y 2016 se observó una desincronización de los

nacimientos y una disminución considerable del número de crías. Estas variaciones podrían estar relacionadas con cambios en las condiciones oceanográficas.

En **el segundo capítulo**, "Estado de salud y nutricional de las crías de *Phoca vitulina richardii* en el Estero de Punta Banda y las Islas Todos Santos", se informa sobre los rangos de los valores, la media, la desviación estándar y el error estándar de los parámetros sanguíneos y la química sérica, así como la media, la desviación estándar y el error estándar de las medidas morfométricas tomadas de crías de foca en las colonias del Estero de Punta Banda e Islas Todos Santos, y se compararon los hallazgos. Para ello, se tomaron muestras de sangre y medidas morfométricas de 32 crías en Islas Todos Santos y 10 en el Estero de Punta Banda, se calcularon dos índices de condición, y se obtuvieron medidas de 14 parámetros hematológicos y 27 analitos bioquímicos. Los rangos de los parámetros sanguíneos se superponen con los reportados para las crías de foca común en otros lugares. Se encontraron diferencias significativas en: los niveles de fósforo y los recuentos de leucocitos fueron más altos para las focas en Islas Todos Santos, mientras que los niveles de sodio y potasio fueron más altos para las focas en el Estero de Punta Banda. Sin embargo, no se encontraron diferencias en el índice de condición corporal, lo cual sugiere que las diferencias nutricionales encontradas no implican diferencias en el contenido energético de la dieta, no afectando tampoco al estado de salud de los individuos.

En **el tercer capítulo**, "Estructura genética poblacional de *Phoca vitulina richardii* en México", se estimaron los niveles de diversidad genética de las colonias del Estero de Punta Banda, Islas Todos Santos, Isla San Jerónimo, Isla Natividad e Isla San Roque, y se examinó la estructura genética poblacional de la foca común en México a partir de un marcador mitocondrial y otro nuclear. Para ello, se amplificó una sección de 572 pares de bases de la región control del ADN mitocondrial, y se genotiparon ocho loci de microsatélites, de 175 crías de foca. En general, la foca común en México presentó una diversidad genética baja, y parece proceder de un evento fundador que comenzó en Islas Todos Santos. La estructura genética encontrada con el marcador nuclear fue menos marcada que con el marcador mitocondrial. Las focas del Estero de Punta Banda presentan claras diferencias con las del resto de las colonias, tanto con el marcador nuclear como con el mitocondrial.

Palabras clave: ADN mitocondrial, Baja California, bioquímica, clima latitudinal, diversidad genética, El Niño, hematología, microsatélites, morfología, *Phoca vitulina richardii*, temporada de cría, temporalidad, el Blob, variación espacial.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) y al Posgrado en Ecología Molecular y Biotecnología por admitirme en su programa.

A Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico concedido a través de una beca que me permitió realizar mis estudios de doctorado.

Al CONACYT por el apoyo otorgado a través del proyecto No. 179451 (Ciencia Básica 2012) con título: “Estructura genética, hábitos alimentarios, abundancia y ciclo anual de la foca de puerto (*Phoca vitulina richardsi*)”.

A la Dirección General de Vida Silvestre por otorgarnos los permisos SGPA/DGVS/11616/13, SGPA/DGVS/12269/13, SGPA/DGVS/08370/14 y SGPA/DGVS/01140/16; a la Secretaría de Gobernación por los permisos UG/211/0087/2014 y UG/211/01022/2014, a la Reserva El Vizcaíno por su apoyo y los permisos otorgados F00.DRPBCPN.000027 y F.00.1.DRPBCPN.00004/2014, todos ellos necesarios para la realización de este estudio.

A Yoli y Gisela por animarme a emprender esta aventura, por guiarme y acompañarme en el camino, por vuestro apoyo y ayuda. Por confiar en mí. Por acompañarme en el trabajo de campo, hasta en las capturas en el estero, por no rendiros hasta que por fin lo conseguimos. A Gisela por aceptarme la primera vez como estudiante y hacer así que cumpliera mi sueño de trabajar con mamíferos marinos; por ir al estero cuando yo no podía. A Yoli gracias por haber estado ahí siempre que necesite tu ayuda o tus consejos, y por todo lo que me has enseñado de ecología molecular.

A los miembros del comité: Concha, Alejandro, Gretel y Antonio, por aceptar acompañarme en esta aventura, por su tiempo, sus consejos, comentarios y aportaciones, me enseñaron mucho y me ayudaron a mejorar este trabajo. Gretel por acompañarme en salidas de campo y enseñarme a sacarle sangre a las foquitas. Alejandro por los datos que me proporcionaste de Bellingham.

A Antonio Trujillo, que me acompañó al principio de este trabajo, y me ayudo con los análisis estadísticos.

A Sarah Codde y Benjamin Becker, del programa de monitoreo de pinnípedos de Point Reyes National Seashore, por los datos proporcionados de Double Point y Drakes Estero.

A Luis Enríquez por su ayuda, consejos y paciencia en el laboratorio, y sus enseñanzas en clase, me encantó su materia.

A Alicia Abadía por su ayuda y sus consejos sobre microsátélites.

A Norberto Castro por todas las divertidas, y muchas increíbles, navegaciones a la isla.

A la Cooperativa California de San Ignacio por el apoyo logístico en Isla San Roque. A todos los vigilantes que nos trasladaban todos los días a la isla.

A la Cooperativa Litoral y a Pacifico Aquaculture por el apoyo logístico en Islas Todos Santos. A los buzos, pescadores, y al cocinero con los que convivimos, que nos recibieron amablemente y nos prestaron su ayuda cuando la necesitamos.

A COBI por el apoyo logístico en Isla Natividad.

A Laura y Francisco del laboratorio GOVALAB, por su disponibilidad, por su profesionalidad y por su gran amabilidad.

A mis compañeros de laboratorio, en especial a Itzel, Marisela y Eli por ayudarme siempre que lo necesité.

A todos los que me ayudaron el trabajo de campo, tanto en las observaciones: Lupita, Claudia, Mónica, Isabel, Violeta, Alejandra, Ferrán, Marta, Eulogio, Denise, Juan, Alex, Aldo, Raisa, Claudia Lizeth, Cristina, Uriel, Lorena, Elizabeth, Edwin, Edgar, Melina, Ivonne, Gabriela, Norma, Briceida, Francisco, Romina, María; como en las capturas: Ricardo, Claudia, Paulette, Marta, Ferrán, Denise, Alejandra, Violeta, Lupita, Maricela, Alex, Eli. Por las aventuras y los momentos divertidos que pasamos.

A los que me ayudaron en las capturas del Estero de Punta Banda, porque a pesar de la dificultad, del frío, de no dormir, y de los pocos éxitos, no se rindieron y siguieron apoyándome, siguiendo hasta las técnicas más disparatadas: Mónica, Lupita, Claudia, Denise, Eli, Alex, Paulette, Maricela, Orión, Lupita y Edgar.

Al equipo foca: Gisela, Yoli, Eulogio, Denise, Alex, Ricardo, Paulette, Claudia, Lupita, Maricela, Eli, Edgar, por vuestra amistad, apoyo y buenos momentos.

A Denise por todos nuestros cafés de consejos y des-estrés, y por tu amistad.

A Eri, Churri, Tere, Fher, Miki, Ricardo y Ángel, por vuestra amistad, paciencia, apoyo desde hace muchos años, y por los momentos increíbles que hemos compartido.

A mi hermana, Yoli, por ser mi mejor amiga, apoyarme en todas mis decisiones, aunque a veces sea difícil, por estar a mi lado siempre a pesar de la distancia. Y a mi cuñado, Miguel, por su amistad y su apoyo.

A mis padres, Esperanza y Luis, por todo lo que habéis hecho por mí siempre, por apoyarme en todas mis decisiones, a pesar de lo difícil que es estar tan lejos, por estar ahí siempre que os necesito.

A Nicolás por ser mi compañero, mi apoyo, por creer en mí, y levantarme cuando me caigo.

A Gael por darme motivación y fuerza.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
AGRADECIMIENTOS	vi
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. ÁREA DE ESTUDIO	5
CAPÍTULO 1: FENOLOGÍA DE LOS NACIMIENTOS DE <i>Phoca vitulina richardii</i> EN MÉXICO	7
3.1. INTRODUCCIÓN	7
3.2. MÉTODOS	8
3.2.1. Trabajo de campo	8
3.2.2. Análisis de los datos	10
3.2.2.1. Temporalidad y caracterización de la temporada de cría	10
3.2.2.2. Variación espacial	11
3.2.2.3. Variación temporal en el Estero de Punta Banda	12
3.3. RESULTADOS	13
3.4. DISCUSIÓN	21
3.4.1. Variación espacial	21
3.4.2. Variación temporal en el Estero de Punta Banda	23

CAPÍTULO 2: ESTADO DE SALUD Y NUTRICIONAL DE LAS CRÍAS DE <i>Phoca vitulina richardii</i> EN EL ESTERO DE PUNTA BANDA Y LAS ISLAS TODOS SANTOS	27
4.1. INTRODUCCIÓN	27
4.2. MÉTODOS	28
<i>4.2.1. Análisis de los datos</i>	32
4.3. RESULTADOS	35
4.4. DISCUSIÓN	39
CAPÍTULO 3: ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DE <i>Phoca vitulina richardii</i> EN MÉXICO	41
5.1. INTRODUCCIÓN	41
5.2. MÉTODOS	43
<i>5.2.1. Trabajo de campo</i>	43
<i>5.2.2. Trabajo de laboratorio</i>	44
<i>5.2.3. Análisis del ADN mitocondrial</i>	45
<i>5.2.4. Análisis de los microsatélites</i>	45
<i>5.2.5. Análisis estadístico de los datos</i>	46
<i>5.2.5.1. Secuencias del ADN mitocondrial</i>	46
<i>5.2.5.2. Microsatélites</i>	47
5.3. RESULTADOS	48
<i>5.3.1. ADN mitocondrial</i>	48
<i>5.3.2. Microsatélites</i>	54
5.4. DISCUSIÓN	57

5.4.1. <i>Diversidad genética</i>	57
5.4.2. <i>Estructura poblacional</i>	60
5.4.3. <i>Filogeografía</i>	63
6. DISCUSIÓN GENERAL	66
7. CONCLUSIONES GENERALES	68
8. RECOMENDACIONES PARA LA CONSERVACIÓN Y EL MANEJO DE <i>Phoca vitulina richardii</i> EN MÉXICO	70
9. LITERATURA CITADA	73
ANEXOS	
ANEXO I: <i>Concentración de clorofila y temporada de cría</i>	89
ANEXO II: <i>Interferencias de los artefactos en las muestras de sangre</i>	93
ANEXO III: <i>Información complementaria de los resultados del Capítulo 2</i>	96
a) Efecto del sexo y de la edad en variables sanguíneas.	96
b) Información que proporcionan los parámetros sanguíneos que no se vieron afectados por el sexo o la edad:	99
c) Resultados de la prueba de Tukey después del MANOVA.	99
ANEXO IV: <i>Información para la discusión del Capítulo 2</i>	100
a) Comparación de las medidas morfométricas e índices de condición de las crías de <i>Phoca vitulina richardii</i> capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015, y los valores publicados para crías de Alaska.	100
b) Comparación de los rangos de referencia de los parámetros hematológicos de las crías de <i>Phoca vitulina richardii</i> capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015, y los	

publicados para crías de Alaska y California.	101
c) Comparación de los rangos de referencia de los analitos bioquímicos de las crías de <i>Phoca vitulina richardii</i> capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015, y los valores publicados para crías de Alaska y California.	102
ANEXO V: Diversidad genética por locus en cada colonia	103
ANEXO VI: Equilibrio de Hardy-Weinberg por locus en cada colonia	105

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Caracterización de la temporada de cría de foca común del Pacífico, <i>Phoca vitulina richardii</i> , en 2014 en Isla San Roque (ISR) e Islas Todos Santos (ITS), estimada a partir del modelo de Rothery y McCann (1987)	14
Tabla 2	Caracterización de la temporada de cría de foca común del Pacífico, <i>Phoca vitulina richardii</i> , de 2013 a 2016 en el Estero de Punta Banda, estimada a partir del modelo de Rothery y McCann (1987)	16
Tabla 3	Comparación de la temporalidad de los nacimientos de foca común del Pacífico, <i>Phoca vitulina richardii</i> , de 2011, 2012 (Fernández-Martín et al. 2016), 2013, 2014, 2015 y 2016 en el Estero de Punta Banda y las condiciones oceanográficas que afectaron a cada temporada (mayo del año anterior- febrero del mismo año)	21
Tabla 4	Criterios utilizados para la estimación de la edad de las crías en función del estado del cordón umbilical, basados en Dierauf et al. (1986)	30
Tabla 5	Medidas morfométricas e índices de condición de las crías de <i>Phoca vitulina richardii</i> capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015	36
Tabla 6	Parámetros hematológicos de las crías de <i>Phoca vitulina richardii</i> capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015	37
Tabla 7	Analitos bioquímicos de las crías de <i>P. v. richardii</i> capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015	38
Tabla 8	Microsatélites usados en el análisis de foca común (<i>Phoca vitulina richardii</i>), rangos de tamaño (pb), número de alelos (A), tipo de repetición, primers (con fluorocromo), y referencias	46
Tabla 9	Secuencias de la región control del ADN mitocondrial alineadas de 175 focas comunes de México	49
Tabla 10	Resumen de la diversidad genética utilizando ADN mitocondrial de <i>Phoca vitulina richardii</i> en México	50

Tabla 11	Diferenciación genética entre colonias de <i>Phoca vitulina richardii</i> en México utilizando el ADN mitocondrial, Φ_{ST} debajo de la diagonal, y el valor p encima de la diagonal	51
Tabla 12	Resumen de la diversidad genética de <i>Phoca vitulina richardii</i> en México, utilizando ocho loci microsatélites	55
Tabla 13	Diferenciación genética F_{ST} , debajo de la diagonal, y el valor p, encima de la diagonal, entre colonias de <i>Phoca vitulina richardii</i> en México utilizando ocho loci microsatélites	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Península de Baja California, México, y localización de Isla San Roque, Islas Todos Santos y Estero de Punta Banda donde se encuentran las colonias de foca común del Pacífico (<i>Phoca vitulina richardii</i>) bajo estudio	9
Figura 2	Distribución temporal de las crías de foca común del Pacífico, <i>Phoca vitulina richardii</i> , de la temporada reproductiva de 2014, en (a) Isla San Roque y (b) Islas Todos Santos. Estimación del modelo de Rothery y McCann (1987) (□) y los conteos de crías (•)	15
Figura 3	Distribución temporal de las crías de foca común del Pacífico, <i>Phoca vitulina richardii</i> , de la temporada reproductiva de (a) 2013, (b) 2014, (c) 2015, y (d) 2016 (d), en el Estero de Punta Banda. Estimación del modelo de Rothery y McCann (1987) (□) y los conteos de crías (•)	17
Figura 4	Distribución temporal de las crías de foca común del Pacífico, <i>Phoca vitulina richardii</i> , de la temporada reproductiva de 2014, en colonias más septentrionales: (a) Double Point y (b) Drakes Estero, California; (c) Bellingham, Washington. Estimación del modelo de Rothery y McCann (1987) y los conteos de crías (•). (d) Distribución temporal de los nacimientos de foca común, <i>Phoca vitulina richardii</i> , de la temporada reproductiva de 2014 en La Jolla California. Estimación del modelo logístico (Trites 1992) y los conteos de crías (•)	19
Figura 5	Variación latitudinal de la fecha media de nacimientos, y regresión lineal entre la fecha media de nacimientos (y) y la latitud (x)	20
Figura 6	Fotoperiodo al que responde cada colonia frente a la latitud	20
Figura 7	Ubicación de las colonias de focas común (<i>Phoca vitulina richardii</i>) en Baja California, México, en las que se tomaron muestras de sangre de los crías que fueron objeto de este estudio	29
Figura 8	Medidas morfométricas de las crías de foca tomadas en campo	31
Figura 9	Regresión lineal entre la longitud estándar rectilínea (LR) y la masa (medidos en campo) para el cálculo de la masa esperada (Me) en el caso de las hembras	33
Figura 10	Regresión lineal entre la longitud estándar rectilínea (LR) y la masa (medidos en campo) para el cálculo de la masa esperada (Me) en el caso de los machos	33

Figura 11	Fotografía ejemplo de cómo se obtuvieron las proporciones de la longitud estándar rectilínea que corresponde a las distancias entre los orificios nasales-PA, PA-PM, PM-PC, y PC-final de la cola	34
Figura 12	Representación de la estimación del porcentaje de grasa de las crías de foca a partir de conos y conos truncados	35
Figura 13	Península de Baja California, México, y localización de Isla San Roque, Isla Natividad, Isla San Jerónimo, Islas Todos Santos y Estero de Punta Banda, donde se encuentran las colonias de foca común (<i>Phoca vitulina richardii</i>) bajo estudio	44
Figura 14	Red de expansión mínima (MSN) para los haplotipos de <i>Phoca vitulina richardii</i> de México	52
Figura 15	Red de expansión mínima (MSN) para los haplotipos de <i>Phoca vitulina richardii</i> de México por colonias	53
Figura 16	Gráfica de STRUCTURE (Pritchard et al. 2000) para $k = 2$	56
Figura 17	Árbol sin raíz por el método de neighbour-joining para <i>Phoca vitulina richardii</i> en cinco colonias de México	57

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En México actualmente existen cuatro especies de pinnípedos que se pueden encontrar en el territorio insular y costero de la Península de Baja California: el lobo fino de Guadalupe (*Arctocephalus philippii townsendi*), el lobo marino de California (*Zalophus californianus*), el elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) y la foca común o foca de puerto (*Phoca vitulina*) (Maravilla-Chávez y Lowry 1996). A nivel internacional, las cuatro especies están clasificadas en preocupación menor en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Aurioles-Gamboa 2015; Aurioles Gamboa y Hernández-Camacho 2015; Hückstädt 2015; Lowry 2016). A nivel nacional, la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 21/12/2015) lista al lobo fino de Guadalupe como especie en peligro de extinción, al elefante marino del norte como amenazada, y al lobo marino de California y la foca común como especies sujetas a protección especial. En consecuencia, y debido a su importancia ecológica y su estatus de especies carismáticas, el gobierno mexicano considera a las cuatro especies de pinnípedos como prioritarias para la conservación (DOF 05/03/2014).

La foca común es el pinnípedo con distribución más amplia a nivel mundial, se encuentra únicamente en el Hemisferio Norte. Se reconocen tres subespecies, que difieren en su distribución geográfica: *P. v. vitulina*, en el océano Atlántico; *P. v. mellonae*, en cuerpos de agua dulce de la Península de Ungava, Canadá; y *P. v. richardii*, en el océano Pacífico (Committee on Taxonomy 2017). La abundancia de la foca común del Pacífico (*P. v. richardii*) se ha estimado que es alrededor de 330,619 individuos (DFO 2010; Allen y Angliss 2013; Carreta et al. 2014; Kobayashi et al. 2014; Lubinsky-Jinich et al. 2017). En México, solamente se encuentran unos 4,862 individuos (Lubinsky-Jinich et al. 2017). Los cuales se distribuyen en nueve islas: Coronados, Todos Santos, San Martín, San Jerónimo, Cedros, San Benito, Natividad, San Roque, y Asunción; además de en distintas playas de la costa oeste de la Península de Baja California, hasta Bahía Asunción (Gallo-Reynoso y Aurioles-Gamboa 1984; Padilla-Villavicencio 1990; Lubinsky-Jinich et al. 2017).

Hasta el momento, los estudios que se han realizado sobre la foca común del Pacífico en México se han basado principalmente en determinar su distribución y su abundancia (Gallo-Reynoso y Aurioles-Gamboa 1984; Padilla-Villavicencio 1990; Loya-Salinas et al.

1992; Torres et al. 1995; Maravilla-Chávez y Lowry 1996; Lubinsky-Jinich et al. 2017); también se han estudiado aspectos biológicos (Padilla-Villavicencio 1990), la alimentación (Elorriaga-Verplancken et al., 2013; Alamán-De Regules 2014; Durazo-Rodríguez 2015; Brassea-Pérez 2016), el uso de hábitat (Arias-Del Razo et al. 2016), el cuidado materno, la perturbación (Ruiz-Mar 2016), y la fenología de los nacimientos y la muda (Fernández-Martín et al. 2016; Tapia-Harris et al. 2017). A pesar de que los estudios sobre esta especie se han incrementado en los últimos años, todavía se desconoce información ecológica importante para su conservación y manejo en México, como son la temporalidad de los nacimientos, el estado de salud de las colonias, la variabilidad genética y la posible estructura genética poblacional.

La foca común pasa la mayor parte del tiempo en el agua y sólo durante ciertas temporadas, como la temporada de nacimientos, es cuando pasa más tiempo en tierra, en este caso lo suelen hacer las hembras para alimentar a sus crías (Bonnes et al. 2006). Debido a esto, y a que esta especie presenta una duración de la lactancia muy corta, de 4 a 5 semanas (Bigg 1981), la temporada de cría es el periodo en el que la especie es más vulnerable. Por tanto, el estudio de la fenología de los nacimientos es importante porque permite conocer en qué momento sería más adecuado tomar medidas de protección para determinada población, en caso de ser necesario; ya que esta temporada varía dependiendo de la localización geográfica de cada población (Bigg 1981; Temte et al. 1991). Además, el estudio de las variaciones de la fenología de los nacimientos puede dar a conocer cambios de las condiciones ambientales (Bohorquez 2001; Jemison y Kelly 2001), y en la dinámica de la población (Cordes y Thompson 2013).

Del mismo modo, es importante conocer el estado de salud de las colonias por cuestiones de conservación, ya que puede ser indicativo de la vulnerabilidad de éstas, o de algún tipo de problema, ya sea ambiental o debido a la acción humana, que esté afectando a las poblaciones (Deem et al. 2003). De manera que su conocimiento permite un mejor manejo de la fauna silvestre y de los ecosistemas (Deem et al. 2003).

El estudio de la diversidad genética y la estructura poblacional es importante para establecer medidas de conservación, sobre todo en el caso de poblaciones pequeñas y aisladas, especialmente si se encuentran en el extremo de su distribución; ya que si estas

poblaciones tienen una diversidad genética baja y se encuentran aisladas, son más vulnerables a procesos estocásticos (Andersen et al. 2011). Este podría ser el caso de la foca común en México, ya que es una especie poco abundante y que se distribuye en diferentes islas y puntos de la costa separados considerablemente, la mayoría de estos lugares son colonias reproductoras (Lubinsky-Jinich et al. 2017); además, es el extremo más sureño de la distribución de la foca común del Pacífico (Scheffer 1958; Bigg 1981). Por tanto, es necesario conocer la estructura poblacional y el flujo genético entre colonias para definir unidades de manejo con significado biológico. Esto puede permitir estimar la cantidad de individuos de los que puede prescindir la población, ya sea por causas ambientales o por interacción con las pesquerías, sin que se vea afectada, así como determinar tendencias poblacionales (O’Corry-Crowe et al. 2001).

Existe cierta relación entre los aspectos mencionados. Se ha visto que diferencias en la fenología de los nacimientos entre colonias cercanas pueden ser consecuencia de diferencias genéticas (Lamont et al. 1996; Huber et al. 2010). Puesto que la temporalidad de los nacimientos está controlada principalmente por el fotoperiodo (Temte 1994), y este tiene un componente genético además de ambiental (Temte 1991). La regulación genética de la temporalidad de los nacimientos requeriría el aislamiento genético entre focas de colonias cercanas (Lamont et al. 1996). Asimismo, diferencias en la temporalidad de los nacimientos puede ocasionar el aislamiento reproductivo, favoreciendo la estructura de la población. Otro factor que influye en la variación de esta temporalidad puede ser la disponibilidad del alimento, que afecta a la condición corporal de las madres (Bigg 1972; Temte 1986; Bohorquez 2001; Jemison y Kelly 2001; Bowen et al. 2003; Reijnders et al. 2010), y que a su vez se podría reflejar en el estado de salud o nutricional de las crías (Trumble y Castellini 2001).

En México, hay indicios de la existencia de un desfase en la temporalidad de los nacimientos entre la colonia de focas del Estero de Punta Banda, y la que se encuentra en Islas Todos Santos (Fernández-Martín et al. 2016). Esto podría deberse a que ambas colonias están aisladas reproductivamente, a pesar de que la distancia que las separa es de escasamente 16 km; o a que existan condiciones que puedan estar afectando fisiológicamente a las madres y por tanto a su condición corporal, provocando un retraso en

la temporalidad de los nacimientos en la colonia del Estero de Punta Banda con respecto a la de Islas Todos Santos. Dichas condiciones pueden deberse a una diferencia en la composición de la dieta de estas colonias (Alamán-De Regules 2014) o el estrés al que está sometida la colonia del Estero de Punta Banda debido a la perturbación humana (Ruiz-Mar 2016).

Por tanto, el objetivo general de este estudio fue generar información ecológica necesaria para la conservación y el manejo de la foca común del Pacífico en México, y comprobar si existen diferencias en la temporalidad de los nacimientos entre colonias que se encuentran a la misma latitud (Esteros de Punta Banda e Islas Todos Santos), y si estas diferencias se pueden explicar por ser colonias reproductivamente aisladas y/o por diferencias en la condición corporal de las madres, a través del estudio del estado de salud de las crías.

2. ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio comprendió un estero y cuatro islas del Pacífico nororiental mexicano, estas islas se encuentran a lo largo de la distribución de la foca común del Pacífico en México.

El Estero de Punta Banda ($31^{\circ} 42'$ a $31^{\circ} 47'$ N y $116^{\circ} 37'$ a $116^{\circ} 40'$ W) es una laguna costera formada por una barra arenosa, que se localiza en la zona suroeste de la Bahía de Todos Santos, en el municipio de Ensenada, Baja California. Es considerado un “Humedal de Importancia Internacional” por la Convención sobre los Humedales RAMSAR. Cuenta con una superficie total de 2,000 ha, de las cuales 1,640 ha corresponden al espejo de agua y el resto a la barra arenosa, que tiene 7 km de longitud y 0.5 km de ancho (Proesteros 2005). En esta zona el pinnípedo que se encuentra es la foca común, aunque en ocasiones se puede observar algún ejemplar de lobo marino de California. El tamaño mínimo de la colonia de focas comunes es de 99 individuos (Fernández-Martín et al. 2016).

Islas Todos Santos son dos islas que se localizan en la Bahía de Todos Santos, en el municipio de Ensenada, Baja California. En la Isla Sur ($31^{\circ} 48'$ N, $116^{\circ} 47'$ W) es donde se encuentra a la foca común en invierno y a la mayoría de los individuos de esta especie en verano (Arias-Del Razo et al. 2017). Forma parte de la “Reserva de la Biósfera Islas del Pacífico de la Península de Baja California” (DOF 07/12/2016). Su perímetro es de 8,734 m, cuenta con una superficie de 87.21 ha, y su distancia al continente es de 17.3 km. Se encuentra habitada por trabajadores de los cultivos marinos y por personal de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes (Samaniego-Herrera et al. 2007). En estas islas habitan otras dos especies de pinnípedos además de la foca común, el lobo marino de California y el elefante marino del norte (Arias-Del Razo et al. 2017). El tamaño mínimo de la colonia de focas comunes es de 453 individuos (Tapia-Harris et al. 2017).

Isla San Jerónimo ($29^{\circ} 48'$ N, $115^{\circ} 47'$ W) se localiza frente a Bahía El Rosario, en el municipio de Ensenada, Baja California. También forma parte de la “Reserva de la Biósfera Islas del Pacífico de la Península de Baja California” (DOF 07/12/2016). Su perímetro es de 4,228 m, cuenta con una superficie de 48.3 ha, y su distancia al continente es de 9.7 km. Se encuentra habitada por personal de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes y por

pescadores temporales (Samaniego-Herrera et al. 2007). En esta isla se encuentran otras dos especies de pinnípedos además de la foca común, el lobo marino de California y el elefante marino del norte (Arias-Del Razo et al. 2017). El tamaño mínimo de la colonia de focas comunes es de 642 individuos (Lubinsky-Jinich et al. 2017).

Isla Natividad (27° 53' N, 115° 12' W) se localiza frente a Punta Eugenia, en el municipio de Mulegé, Baja California Sur. Forma parte de la “Reserva de la Biósfera El Vizcaíno”. Su perímetro es de 19,432 m, cuenta con una superficie de 728 ha, y su distancia al continente es de 9.3 km. Tiene una población de 200 habitantes aproximadamente (Samaniego-Herrera et al. 2007). En esta isla habitan dos especies de pinnípedos además de la foca común, principalmente el lobo marino de California, y algunos individuos de elefantes marinos del norte (Arias-Del Razo et al. 2017). El tamaño mínimo de la colonia de focas comunes es de 724 individuos (Lubinsky-Jinich et al. 2017).

Isla San Roque (27° 8' N, 114° 22' W) se localiza frente a Bahía Asunción, en el municipio de Mulegé, Baja California Sur. También forma parte de la “Reserva de la Biósfera El Vizcaíno”. Su perímetro es de 4,856 m, cuenta con una superficie de 37 ha, y su distancia al continente es de 1.9 km. Sólo se encuentra habitada por vigilantes de la cooperativa pesquera (Samaniego-Herrera et al. 2007). En esta isla el único pinnípedo que se encuentra es la foca común (Arias-Del Razo et al. 2017), con un tamaño mínimo de la colonia de 1,303 individuos (Tapia-Harris et al. 2017).

CAPÍTULO 1: FENOLOGÍA DE LOS NACIMIENTOS DE *Phoca vitulina richardii* EN MÉXICO

3.1. INTRODUCCIÓN

Los nacimientos de la foca común son eventos biológicos que se repiten cada año con una alta precisión (Temte 1991), y se encuentran controlados por factores bióticos y abióticos (Bigg 1981). Se cree que la temporalidad de los nacimientos de la foca común se encuentra controlada principalmente por el fotoperiodo, ya que este podría ser el estímulo que desencadena la implantación del blastocisto (Temte 1994). La implantación ocurre después de un periodo de diapausa embrionaria de 1.5 a 2 meses; y es seguido por una gestación de unos 9 meses (Bigg 1969). La implantación tardía se considera una estrategia reproductiva que permite que las crías nazcan cuando las condiciones son óptimas para su supervivencia (Sandell 1990; Boyd 1991), y hace que el nacimiento y el apareamiento se produzcan en un período de tiempo relativamente breve (Boyd 1991).

La temporada de nacimientos de la foca común del Pacífico (*P. v. richardii*) sigue una clina latitudinal, de manera que en Baja California, el extremo sur de su distribución, ocurre primero y se va retrasando al ir hacia el norte, hasta llegar a Washington, donde sucede más tarde (Temte et al. 1991). Se han descrito otros dos grupos dentro de esta subespecie en función del fotoperiodo crítico al que responde cada uno (Temte 1994) y por tanto a la diferente temporalidad de los nacimientos que presentan (Temte et al. 1991). Estos grupos son: el grupo de Puget Sound (47.1° N a 48.5° N), donde la temporada de nacimientos se produce aproximadamente dos meses después que en lugares a la misma latitud; y el grupo del norte desde British Columbia hasta Alaska (54.1° N a 60.3° N), donde la temporada de nacimientos no presenta ninguna variación latitudinal (Temte et al. 1991; Temte 1994). La respuesta de cada grupo a un cierto fotoperiodo podría ser debido a una especiación parapátrica (Temte 1994). Se han realizado estudios filogenéticos en los que se encontró que las focas de Puget Sound son un grupo genéticamente distinto al de las costeras que se encuentran a la misma latitud (Lamont et al. 1996; Huber et al. 2010).

Otro factor que puede producir variaciones en la temporalidad de los nacimientos es la disponibilidad del alimento, ya que afecta a la condición corporal de las hembras (Bigg

1972; Temte 1986; Bohorquez 2001; Jemison y Kelly 2001; Bowen et al. 2003; Reijnders et al. 2010). Por tanto, los cambios en la temporalidad de los nacimientos pueden ser reflejo de variaciones de las condiciones ambientales, como el cambio climático (Forrest y Miller-Rushing 2010; Cordes y Thompson 2013) y eventos como El Niño y La Niña (Bohorquez 2001); o de cambios en el ecosistema como los provocados por la pesca comercial (Jemison y Kelly 2001; Reijnders et al. 2010) y la competencia interespecífica (Bowen et al. 2003).

En México no se conoce con exactitud cuándo tiene lugar la temporada de cría ni el número máximo de crías, salvo en el Estero de Punta Banda, Baja California (Fernández-Martín et al. 2016). Hasta antes de ese estudio (2011-2012), a lo largo de la costa de México, sólo había constancia de registros de crías en momentos puntuales entre enero y abril (Padilla-Villavicencio 1990; Loya-Salinas et al. 1992; Lubinsky-Jinich et al. 2017). Los objetivos de este estudio fueron: 1) describir la temporalidad de los nacimientos de la foca común del Pacífico en los extremos de su distribución en México: Isla San Roque al sur e Islas Todos Santos al norte, examinando la variación latitudinal; 2) comparar la temporalidad de los nacimientos de dos colonias que se encuentran a la misma latitud: una en el Estero de Punta Banda y la otra en Islas Todos Santos; 3) examinar la variación temporal de la temporada de crías en el Estero de Punta Banda de 2011 a 2016.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Trabajo de campo

Durante 2014 se hicieron observaciones de las colonias de foca común desde lancha, circunnavegando las islas, una vez a la semana. En Isla San Roque (27° 8' 50" N, 114° 22' 30" W), Baja California Sur, se realizaron de mediados de enero a mediados de mayo, mientras que en Islas Todos Santos (31° 48' 0" N, 116° 47' 26" W), Baja California, se realizaron de principios de febrero a principios de junio (Figura 1). En el Estero de Punta Banda (31° 46' 12" N, 116° 37' 9" W), Baja California, las observaciones se hicieron desde tierra, evitando los fines de semana y días festivos (debido a la perturbación humana), y tuvieron lugar de finales de febrero a mediados de abril cada dos semanas en 2013, de

finales de enero a principios de mayo una vez a la semana en 2014, y de principios de febrero a finales de abril dos veces a la semana en 2015 y 2016. Todas las observaciones se realizaron con la ayuda de binoculares 7x50 y durante la marea baja, ya que es cuando más individuos se observan en tierra (Jemison y Kelly 2001; Boveng et al. 2003). Se hicieron conteos del número de crías (individuos lactantes nacidos el año del muestreo) y destetados (individuos no lactantes nacidos el año del muestreo). Las crías se pueden identificar por su tamaño pequeño y por encontrarse fuertemente vinculadas con su madre (sobre el dorso de ésta cuando están en el agua, y alimentándose o permaneciendo junto a ella cuando están en tierra). Los destetados se pueden identificar por su pelaje nuevo y el cráneo de pequeño tamaño, y por permanecer solos, formando grupos, o junto a una pareja madre-cría, pero sin ninguna relación con una hembra adulta.

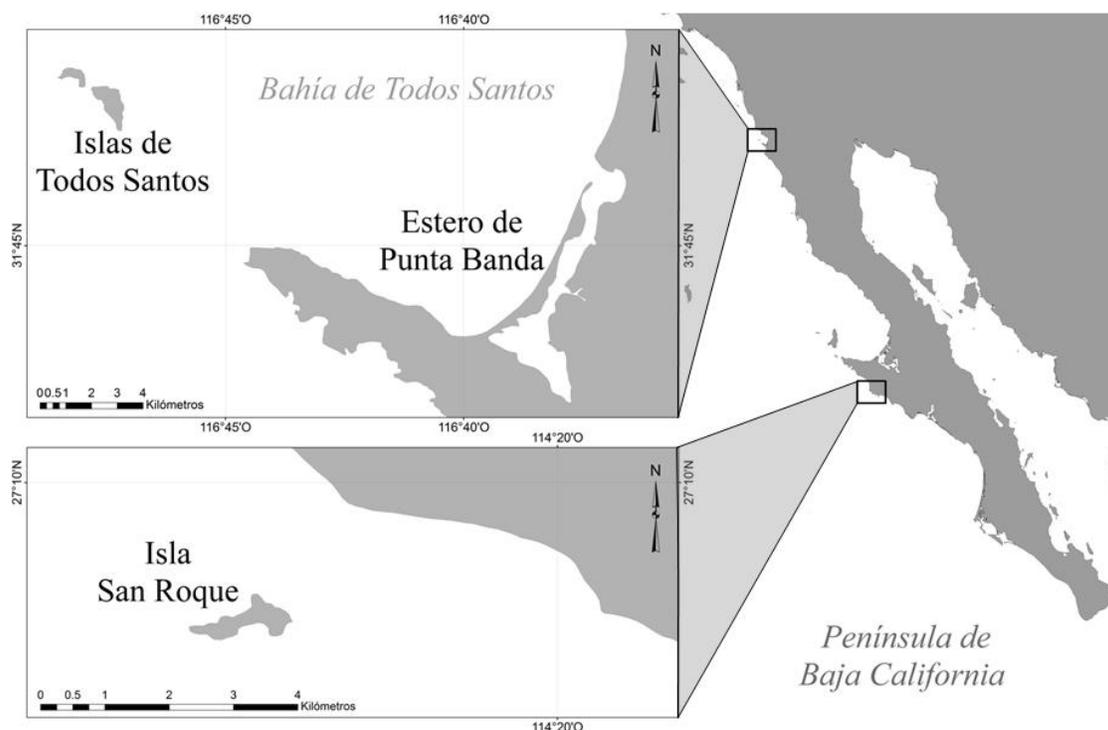


Figura 1. Península de Baja California, México, y localización de Isla San Roque, Islas Todos Santos y Estero de Punta Banda donde se encuentran las colonias de foca común del Pacífico (*Phoca vitulina richardii*) bajo estudio.

3.2.2. Análisis de los datos

3.2.2.1. Temporalidad y caracterización de la temporada de cría

Se sumaron los conteos de crías y destetados, con el fin de tener el número de crías acumulado, para cada lugar y cada temporada, hasta los días donde se obtuvo el número máximo de crías. Posteriormente se realizó el ajuste no lineal del modelo logístico, que se presenta en la siguiente ecuación (Trites 1992):

$$P_t = \frac{A}{1+c \cdot e^{-k \cdot t}} \quad (1)$$

donde P_t es el número de crías y destetados en el tiempo t (en todos los análisis, $t=1$ corresponde al 1 de enero); los parámetros del modelo son A , c y k , que corresponden a la asíntota, la constante de integración y la tasa de crecimiento constante, respectivamente. Al ser un modelo simétrico, la media coincide con la mediana, por lo que para calcular la fecha media de nacimientos (B), se utilizó la siguiente ecuación (Trites 1992):

$$B = \frac{-\ln(1/c)}{k} \quad (2)$$

con la varianza

$$\text{var}(B) = \left(\frac{1}{ck}\right)^2 \sigma_c^2 + 2 \frac{-\ln c}{ck^3} \sigma_{ck} + \left(\frac{-\ln c}{k^2}\right)^2 \sigma_k^2 \quad (3)$$

De esta forma se obtuvieron el número mínimo de crías, la fecha media de los nacimientos, y la desviación estándar ($\sqrt{\text{var}(B)}$), los cuales se usaron como parámetros iniciales para ajustar el modelo de Rothery y McCann (1987).

El modelo de Rothery y McCann (1987) se desarrolló para describir la distribución temporal de las hembras de elefante marino del norte en tierra durante la temporada reproductiva (Rothery y McCann 1987; Galimberti y Sanvito 2001; García-Aguilar 2004). Este modelo fue utilizado previamente con la foca común del Pacífico para describir la distribución temporal de crías en el Estero de Punta Banda (Fernández-Martín et al. 2016). El modelo describe el patrón temporal de los conteos, que se deriva de la distribución del momento en que nacen las crías, por lo que fue utilizado para describir la temporalidad de

los nacimientos y de la temporada de cría en Isla San Roque e Islas Todos Santos en 2014, y en el Estero de Punta Banda de 2013 a 2016.

El modelo de Rothery y McCann (1987) supone el cumplimiento de estas dos condiciones: 1) los nacimientos siguen una distribución normal con media μ (días) y desviación estándar σ ; y 2) la duración de la lactancia, L , es igual para todas las crías. Así, $n(t)$ es el número de crías en el tiempo t (días), y está dado por:

$$n(t) = N_T \cdot p(t, \mu, \sigma, L) \quad (4)$$

donde N_T representa el total de crías, y $p(t, \mu, \sigma, L)$ es la proporción esperada de crías en el tiempo t . Esta proporción considera a todas las crías que nacieron antes del tiempo t menos las que fueron destetadas antes de $t - L$, por lo que la distribución normal de p es:

$$p(t, \mu, \sigma, L) = \Phi\left(\frac{t-\mu}{\sigma}\right) - \Phi\left(\frac{t-L-\mu}{\sigma}\right) \quad (5)$$

donde Φ es la distribución acumulada de la distribución normal estandarizada.

Los parámetros del modelo μ , σ y L , N_T , al igual que la duración, el inicio y el final de la temporada de cría, y cuando se encuentra el máximo de crías, para cada lugar y temporada reproductiva, se obtuvieron ajustando el modelo descrito por la ecuación (4) a los conteos de crías, minimizando la suma de cuadrados de la variación residual. Excepto en el caso del Estero de Punta Banda donde la L se fijó en 22.65 días (Fernández-Martín et al. 2016), ya que en esta estimación se contó con un mayor número de observaciones, y se hizo para la misma colonia de focas.

3.2.2.2. *Variación espacial*

Para analizar la variación espacial se estimó la fecha media de nacimientos de otras colonias más septentrionales con datos del mismo año que los de las colonias en México (2014). Se obtuvieron los datos reportados por Seal Conservancy (<http://sealconservancy.org/pup-news-2014/>) para la colonia de focas de La Jolla, California (32° 50' 51" N, 117° 16' 42.5" W). Estos datos son de nacimientos, por lo que a partir de ellos se obtuvieron los nacimientos acumulados y se realizó un ajuste no lineal del

modelo logístico (Ecuación 1; Trites 1992), donde Pt es el número de nacimientos acumulados en el tiempo t. La fecha media de nacimientos se obtuvo mediante la Ecuación 2 (Trites 1992). Además, se incluyeron conteos de crías de dos colonias, Double Point (37° 56' 51" N, 122° 46' 56" W) y Drakes Estero, San Francisco, California (38° 1' 50" N, 122° 55' 46" W), obtenidos como parte del programa de monitoreo de pinnípedos del Servicio de Parques Nacionales dentro de la Red del Área de la Bahía de San Francisco (Adams et al. 2009). También se usaron conteos de crías de la colonia de focas de Bellingham¹, Washington (48° 44' 53" N, 122° 29' 15.41" W). Se realizó el ajuste del modelo de Rothery y McCann (1987; Ecuación 4, 5) para cada una de las tres colonias, para obtener la fecha media de nacimientos. Posteriormente se graficaron las fechas medias de nacimientos de estas colonias y las de México con la latitud, y se realizó una regresión lineal.

Con el fin de estimar el fotoperiodo al que responde cada colonia, primero se calculó la fecha de implantación del blastocisto para cada colonia, que es 283 días antes que la fecha media de nacimientos (Temte 1994). Después para esa fecha, para cada localidad, se calculó la diferencia entre la hora del atardecer y el amanecer, obteniéndose así las horas de luz al día, es decir, el fotoperiodo para cada colonia de focas. Finalmente, se graficó el fotoperiodo al que responde cada colonia frente a la latitud.

3.2.2.3. *Variación temporal en el Estero de Punta Banda*

Para estudiar la variación temporal de la fenología de los nacimientos de la colonia de focas del Estero de Punta Banda se calcularon los intervalos de confianza del 95% para la fecha media de nacimientos de las temporadas de 2011, 2012 (Fernández-Martín et al. 2016), 2013, 2014, 2015 y 2016. Además, se obtuvo información sobre las condiciones oceanográficas que podrían afectar a la disponibilidad de alimento de las focas, como son la temperatura superficial del mar y la concentración de clorofila en la Bahía de Todos Santos (31° 43' 30" N - 31° 51' 45" N, 116° 36' 45" W - 116° 45' 00" W), donde se encuentra el Estero de Punta Banda. Estos datos se obtuvieron a partir de imágenes del satélite Aqua MODIS tanto para la concentración de clorofila (mg/m^3 ; <http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/erddap/griddap/erdMBchlamday.graph>) como para la temperatura superficial del mar ($^{\circ}\text{C}$; <http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/erddap/griddap/erdMWSstdmday.graph>), que proporciona

¹ Datos proporcionados por el Dr. Alejandro Acevedo Gutiérrez, Western Washington University

los promedios mensuales. Con estos datos se calcularon los promedios mensuales para la bahía, y después el promedio de los meses anteriores a cada temporada de cría, es decir, de mayo del año anterior a febrero del mismo año. Esto debido a que son las condiciones que podrían estar afectando a las hembras antes de la implantación del blastocisto y del parto.

3.3. RESULTADOS

El patrón presentado por la distribución temporal de las crías de foca común fue descrito satisfactoriamente por el modelo de Rothery y McCann (1987), tanto en las islas para la temporada de cría de 2014: $R^2 = 0.961$ en Isla San Roque y $R^2 = 0.989$ en Islas Todos Santos (Figura 2), como en el Estero de Punta Banda en las distintas temporadas: $R^2 = 0.909$ en 2013, $R^2 = 0.988$ en 2014, $R^2 = 0.847$ en 2015, y $R^2 = 0.781$ en 2016 (Figura 3). La fecha media de nacimientos en Isla San Roque ocurrió a finales de enero, en Islas Todos Santos a mediados de febrero (Tabla 1; Figura 2) y en el Estero de Punta Banda varió de principios de marzo a mediados de marzo (Tabla 2; Figura 3). Se estimó que el número total de crías que nacieron en Isla San Roque fue de 344, en Islas Todos Santos fueron 160 (Tabla 1), y en el Estero de Punta Banda varió entre los años, de 12 a 40 (Tabla 2).

La temporada de cría empieza cuando nace la primera cría; el fin de la temporada ocurre cuando todas las crías han sido destetadas. La duración de la temporada de cría fue de 13.43 semanas en Isla San Roque, y abarcó de finales de diciembre a finales de marzo, mientras que en Islas Todos Santos tuvo una duración de 9.43 semanas, y fue de finales de enero a principios de abril (Figura 2, Tabla 1). En el Estero de Punta Banda la temporada de cría duró entre 7.71 a 10.86 semanas y se produjo entre mediados de febrero a finales de abril (Tabla 2, Figura 3). Se estimó que la duración de la lactancia en 2014 fue de 21 días en Isla San Roque y 29.18 días en Islas Todos Santos (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de la temporada de cría de foca común del Pacífico, *Phoca vitulina richardii*, en 2014 en Isla San Roque (ISR) e Islas Todos Santos (ITS), estimada a partir del modelo de Rothery y McCann (1987). El número de días (entre paréntesis) empieza con 1 el 1 de enero. La temporada de cría empieza cuando se observa la primera cría recién nacida. El fin de la temporada de cría se estima cuando todas las crías han sido destetadas.

	ISR	ITS
Fecha media de nacimientos (μ)	27 de enero (27)	16 de febrero (47)
Desviación estándar de μ (σ)	13.95	7.35
Inicio de la TC	22 de diciembre (-9)	29 de enero (29)
Final de la TC	26 de marzo (85)	5 de abril (95)
Duración de la TC	13.43 semanas (94 días)	9.43 semanas (66 días)
Fecha del máximo de crías	7 de febrero (38)	2 de marzo (61)
Número total de crías nacidas (N_T)	344	160
Duración de la lactancia (L)	21 días	29.18 días

TC = temporada de crías; fecha (t = fecha en días), donde t = 1 corresponde con el 1 de enero; los parámetros del modelo: μ , σ , L y N_T ; Inicio de la TC = fecha en la que se estimó el primer nacimiento; final de la TC = fecha en la que se estimó que todas las crías han sido destetas.

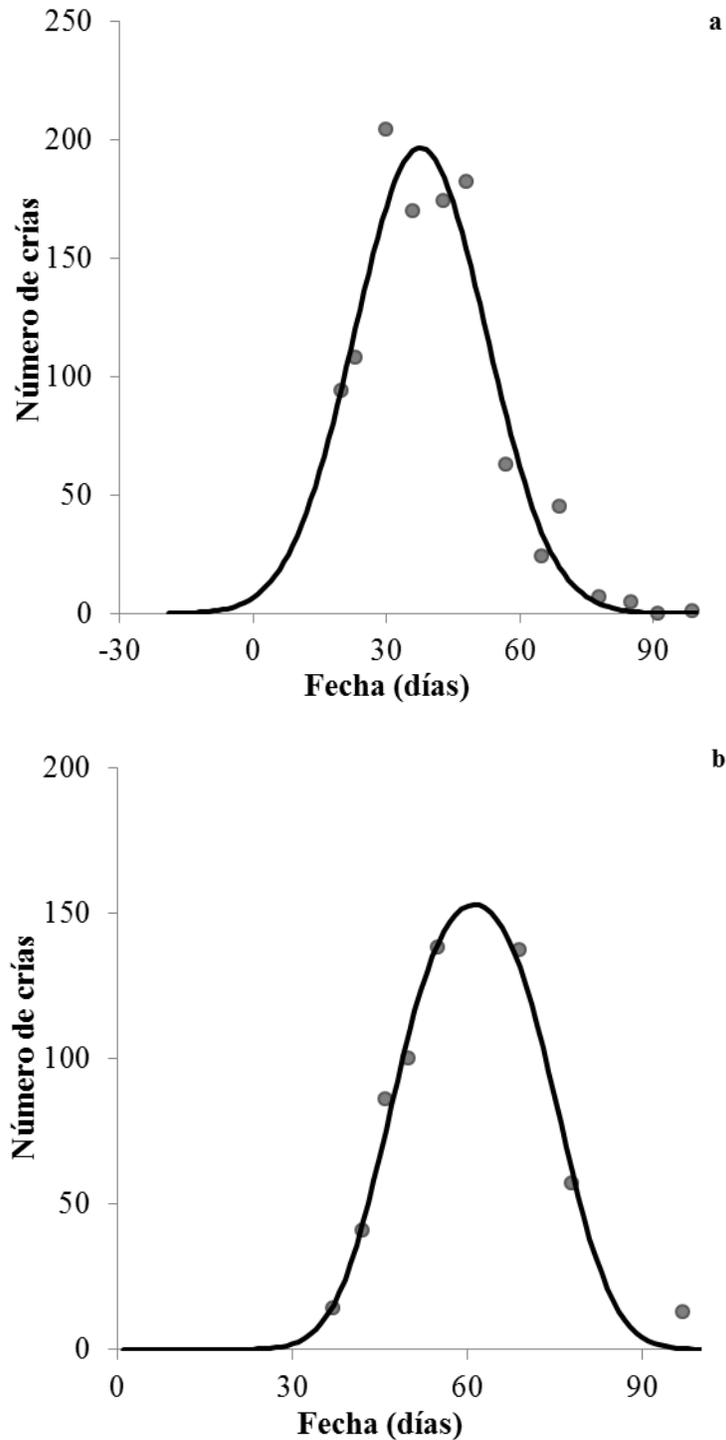


Figura 2. Distribución temporal de las crías de foca común del Pacífico, *Phoca vitulina richardii*, de la temporada reproductiva de 2014, en (a) Isla San Roque y (b) Islas Todos Santos. Estimación del modelo de Rothery y McCann (1987) (—) y los conteos de crías (•). El día 1 representa el día 1 de enero.

Tabla 2. Caracterización de la temporada de cría de foca común del Pacífico, *Phoca vitulina richardii*, de 2013 a 2016 en el Estero de Punta Banda, estimada a partir del modelo de Rothery y McCann (1987). El número de días empieza con 1 el 1 de enero. La temporada de cría empieza cuando se observa la primera cría recién nacida. El fin de la temporada de cría se estima cuando todas las crías han sido destetadas.

	2013	2014	2015	2016
Fecha media de nacimientos (μ)	4 de marzo (63)	15 de marzo (74)	9 de marzo (68)	10 de marzo (70)
Desviación estándar de μ (σ)	8.21	11.83	16.18	13.83
Inicio de la TC	17 de febrero (48)	20 de febrero (51)	11 de febrero (42)	21 de febrero (52)
Final de la TC	12 de abril (102)	30 de abril (120)	28 de abril (118)	21 de abril (112)
Duración de la TC	7.71 semanas (54 días)	9.86 semanas (69 días)	10.86 semanas (76 días)	8.57 semanas (60 días)
Fecha del máximo de crías	16 de marzo (75)	26 de marzo (85)	21 de marzo (80)	21 de marzo (81)
Número total de crías nacidas (N_T)	40	39	21	12
Duración de la lactancia (L)	22.65 días	22.65 días	22.65 días	22.65 días

TC = temporada de crías; fecha (t = fecha en días), donde t = 1 corresponde con el 1 de enero; los parámetros del modelo: μ , σ , L y N_T ; Inicio de la TC = fecha en la que se estima ver la primera cría; Final de la TC = fecha en la que se estima que todas las crías han sido destetadas.

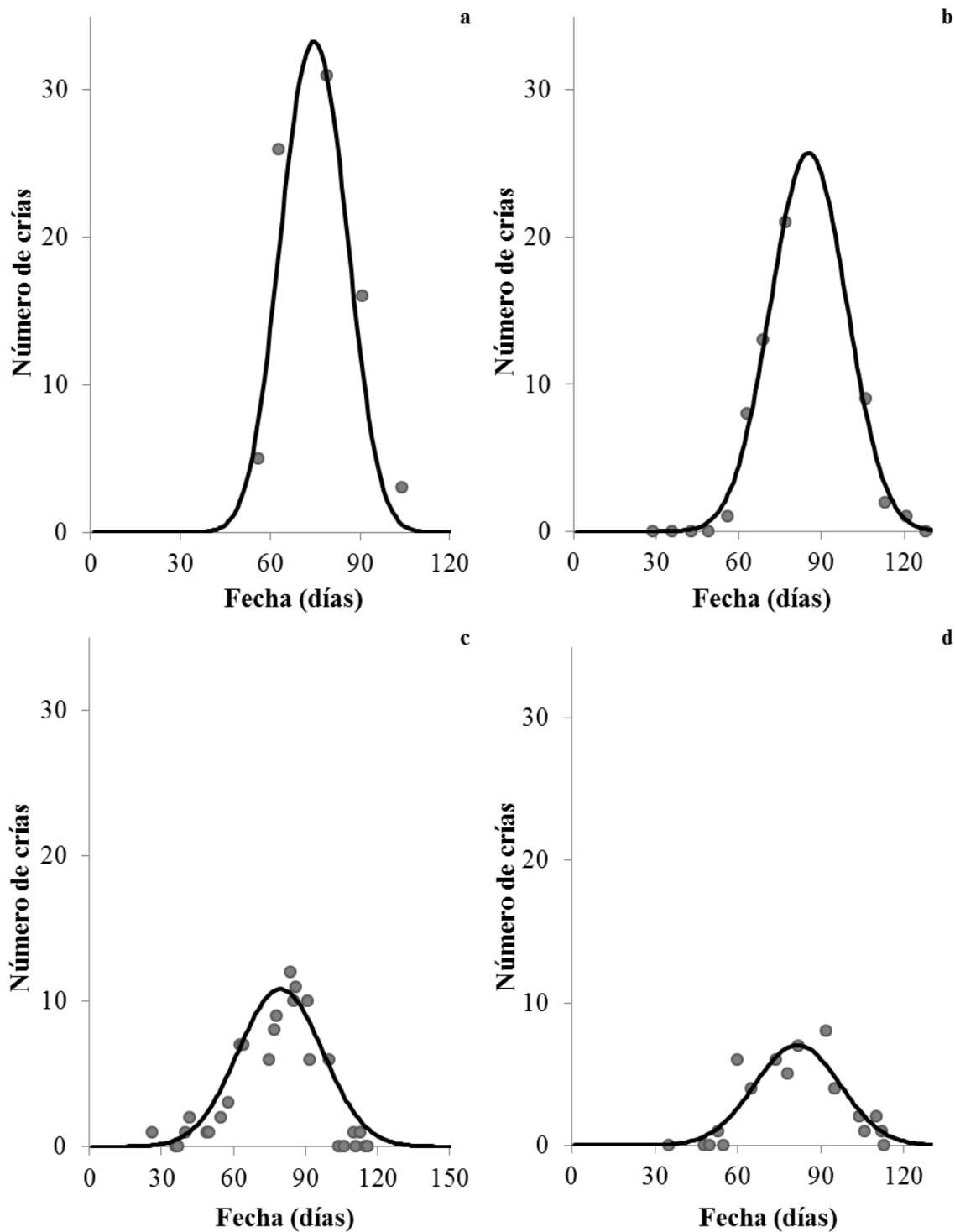


Figura 3. Distribución temporal de las crías de foca común del Pacífico, *Phoca vitulina richardii*, de la temporada reproductiva de (a) 2013, (b) 2014, (c) 2015, y (d) 2016 (d), en el Estero de Punta Banda. Estimación del modelo de Rothery y McCann (1987) (—) y los conteos de crías (•). El día 1 representa el día 1 de enero.

El patrón que muestra la distribución temporal de las crías de foca común fue descrito por el modelo de Rothery y McCann (1987) de forma satisfactoria, para la temporada de cría de 2014, en Double Point ($R^2 = 0.843$), en Drakes Estero ($R^2 = 0.943$) y en Bellingham ($R^2 = 0.844$; Figuras 4a, b y c). Igualmente, el patrón mostrado por la distribución temporal de los nacimientos de foca común fue bien descrito por el modelo logístico (Trites 1992) para la temporada de cría de 2014 en La Jolla ($R^2 = 0.995$; Figura 4d). De estos ajustes se obtuvo que la fecha media de nacimientos se ocurrió el 14 de abril en Double Point, el 16 de abril en Drakes Estero, el 19 de julio en Bellingham, y el 25 de febrero en La Jolla. De la regresión lineal entre las fechas medias de nacimientos de estas colonias y las de México con la latitud ($R^2 = 0.9705$; Figura 5), se detectó un retraso de 8.1 días en la fecha media de nacimientos por grado de latitud hacia el norte. Los resultados sugieren que las hembras de foca, de las colonias estudiadas, responden a distintos fotoperiodos, a excepción de las colonias de San Francisco. Se obtuvo un fotoperiodo de 12.9 h luz/día para Isla San Roque, 13.6 h luz/día para Islas Todos Santos, 14.1 h luz/día para el Estero de Punta Banda, 13.9 h luz/día para La Jolla, 14.7 h luz/día para Double Point y Drakes Estero, y 11.2 h luz/día para Bellingham (Figura 6).

Las concentraciones promedio de clorofila en la Bahía de Todos Santos, de los meses de mayo (año anterior) a febrero de las temporadas de cría de 2011 a 2016, variaron entre 5.96 a 20.12 mg/m^3 , mientras que la temperatura superficial del mar varió entre 17.24 a 20.06 $^{\circ}\text{C}$ (Tabla 3). En la Tabla 3 resulta evidente que la temperatura superficial el mar muestra una tendencia a incrementarse, mientras la clorofila muestra un decrecimiento gradual. Esto podría ser una consecuencia de dos eventos: el “Blob” y el Niño. El “Blob” empieza en 2013 en el Pacífico Norte, y en Baja California es observable desde principios de 2014 (Bond et al. 2015; Robinson 2016). El Niño es declarado como fuerte y aparece a fines de 2014, con picos máximos durante 2015 (NOAA 2017). Ambos eventos produjeron un calentamiento nunca antes observado en la región, con anomalías de temperatura de entre 2-3 $^{\circ}\text{C}$ (Hartmann 2014; Ávila-López et al. 2016). Por otro lado, la clorofila parece mostrar una correlación negativa con la temperatura.

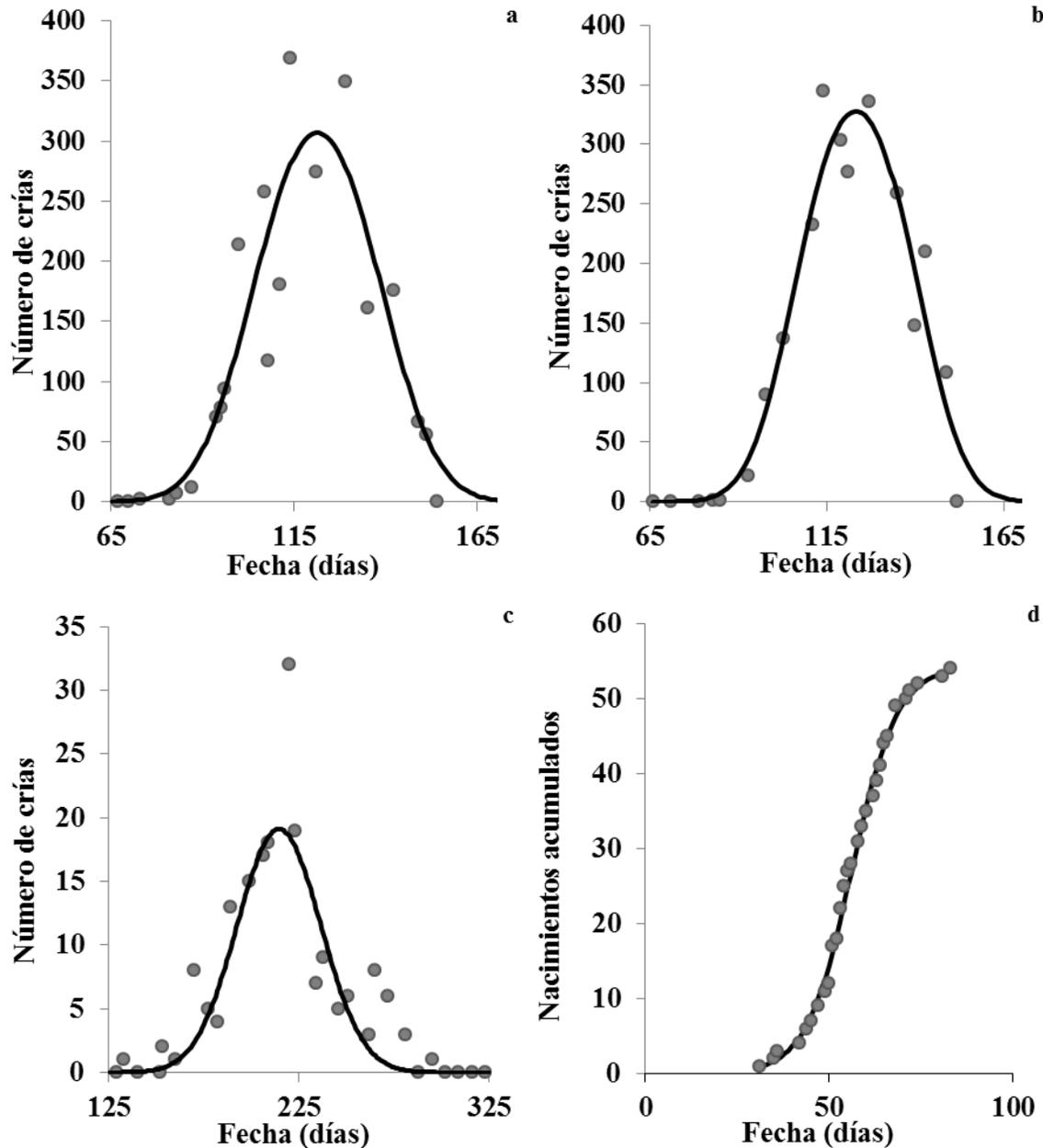


Figura 4. Distribución temporal de las crías de foca común del Pacífico, *Phoca vitulina richardii*, de la temporada reproductiva de 2014, en colonias más septentrionales: (a) Double Point y (b) Drakes Estero, California; (c) Bellingham, Washington. Estimación del modelo de Rothery y McCann (1987) y los conteos de crías (•). (d) Distribución temporal de los nacimientos de foca común, *Phoca vitulina richardii*, de la temporada reproductiva de 2014 en La Jolla California. Estimación del modelo logístico (Trites 1992) y los conteos de crías (•). El día 1 representa el día 1 de enero.

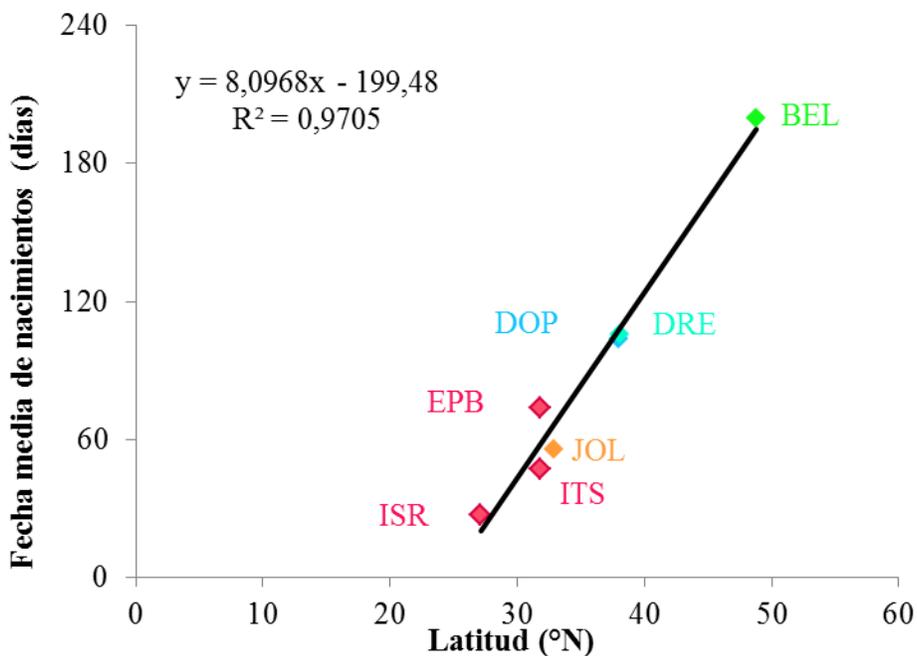


Figura 5. Variación latitudinal de la fecha media de nacimientos, y regresión lineal entre la fecha media de nacimientos (y) y la latitud (x). ISR = Isla San Roque; ITS = Islas Todos Santos; EPB = Estero de Punta Banda; JOL = La Jolla; DOP = Double Point; DRE = Drakes Estero; BEL = Bellingham.

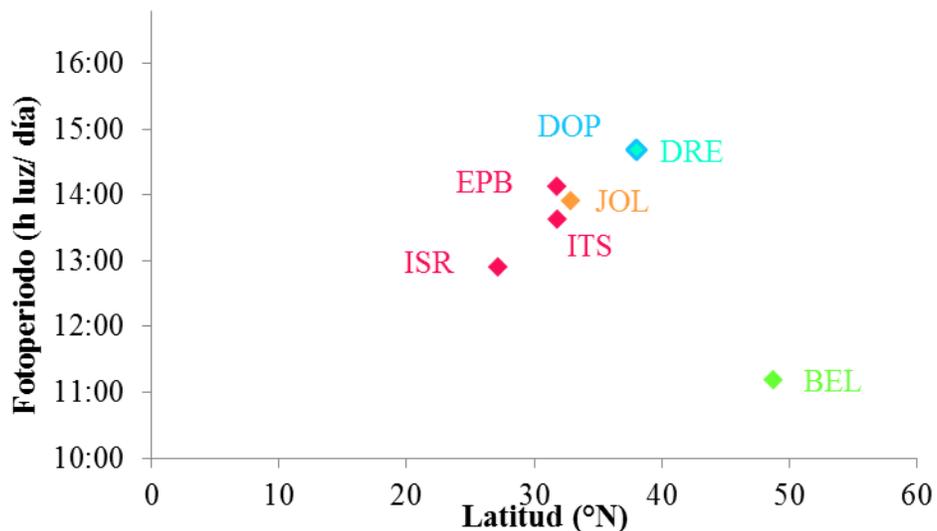


Figura 6. Fotoperiodo al que responde cada colonia frente a la latitud. ISR = Isla San Roque; ITS = Islas Todos Santos; EPB = Estero de Punta Banda; JOL = La Jolla; DOP = Double Point; DRE = Drakes Estero; BEL = Bellingham.

Tabla 3. Comparación de la temporalidad de los nacimientos de foca común del Pacífico, *Phoca vitulina richardii*, de 2011, 2012 (Fernández-Martín et al. 2016), 2013, 2014, 2015 y 2016 en el Estero de Punta Banda y las condiciones oceanográficas que afectaron a cada temporada (mayo del año anterior- febrero del mismo año).

	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Intervalo de confianza del 95% de la fecha media nacimientos (días)	3-10 mar (62-70)	1-8 mar (61-69)	28 feb-7 mar (60-66)	11-18 mar (70-78)	3-14 mar (63-73)	4-15 mar (64-76)
Desviación estándar de fecha media nacimientos	10.72	10.52	8.21	11.83	16.18	13.83
Número total de crías nacidas	34	35	40	39	21	12
Concentración de clorofila (mg/m³)	20.12	15.14	12.78	11.32	10.83	5.96
Temperatura superficial del mar (°C)	17.24	17.14	18.06	18.36	19.75	20.06

3.4. DISCUSIÓN

3.4.1. Variación espacial

La temporada de cría de 2014 de la foca común del Pacífico en Isla San Roque se produjo de finales de diciembre a finales de marzo, mientras que en Islas Todos Santos tuvo lugar de finales de enero a principios de abril, de manera que sucede primero en la isla que se encuentra más al sur, lo cual coincide con lo reportado hasta ahora (Temte et al. 1991). La desviación estándar indica que tan sincronizados están los nacimientos, por lo que se puede deducir que en Isla San Roque es donde están menos sincronizados. Esto también se refleja en la duración de la temporada de cría, pues es mayor en Isla San Roque, que se sitúa en el extremo sur de la distribución de la especie. Lo anterior concuerda con lo observado en general para pinnípedos, donde la duración de la temporada de cría varía

según las condiciones ambientales, siendo más amplia en zonas con estaciones menos marcadas, y tiene una menor duración en zonas polares y templadas (Riedman 1990).

Al comparar las fechas medias de nacimientos en México con las obtenidas en otras colonias más septentrionales, con datos del mismo año, se pudo observar que siguieron una clina latitudinal de sur a norte. Al obtener la regresión lineal entre la fecha media de nacimientos y la latitud, se encontró que hay un retraso de 8.1 días en la fecha media de nacimientos por grado de latitud hacia el norte (Figura 5). Esto contrasta con lo reportado en un estudio anterior, donde se reportó un retraso de 4.1 días por grado de latitud hacia el norte (Temte et al. 1991). Esta diferencia podría deberse a que las fechas de nacimientos que utilizaron en dicho estudio no pertenecían al mismo año, a diferencia de la presente investigación, lo cual permite reducir el ruido que podrían tener las diferentes condiciones oceanográficas en los distintos años que podrían afectar a la disponibilidad del alimento, y por tanto a la fecha media de nacimientos (Bigg 1972; Temte 1986; Bohorquez 2001; Jemison y Kelly 2001; Bowen et al. 2003; Reijnders et al. 2010). Otro motivo pudo ser que no en todos los casos se contó con el conjunto de datos para calcular la fecha media de nacimientos, y utilizaron un aproximado a la fecha media de la temporada de cría (Temte et al. 1991). Por último, también podría influir la diferencia en el número de datos que se utilizaron para la estimación: 16 en Temte et al. (1991) y 7 en este estudio.

Es posible que la clina latitudinal que siguen los nacimientos de foca desde México a Washington podría deberse a un factor latitudinal no selectivo como es el fotoperiodo (Temte et al. 1991). Se estimó que el fotoperiodo que se produce 283 días antes del parto, para la subespecie *P. v. richardii* de Baja California a Washington, es de 14.3 h luz/día, y tiene como respuesta la implantación del blastocisto (Temte 1994). En los lugares de este estudio se obtuvieron fotoperiodos de entre 11.2 a 14.7 h luz/día, por lo que parece que puede haber una mayor variabilidad de los fotoperiodos entre colonias dentro de la subespecie. Por lo tanto, cada colonia podría conservar el fotoperiodo que permite que las crías de foca común nazcan en el momento en el que las condiciones ambientales serían óptimas para su sobrevivencia (Bigg 1972). Tal puede ser el caso de una temperatura ni demasiado alta ni demasiado baja (Harding et al. 2005), ya que la neutralidad térmica de las crías de foca común en el aire se encuentra entre los 2 y 25 °C (Miller y Irving 1975); a

partir de 28.6-35 °C se ha observado que pueden sufrir hipertermia (Hasen y Lavigne 1997). Otro factor puede ser una mayor disponibilidad de alimento (Bigg 1972), pues se observó que la máxima concentración de clorofila anual se produce durante o al final de la temporada de cría en cada colonia (Anexo I), lo que podría indicar que hay una mayor productividad en cada zona en el momento del destete de las crías, y por tanto una mayor disponibilidad de alimento.

En cuanto al caso de las colonias de Islas Todos Santos y del Estero de Punta Banda, se esperaría que la temporada de cría ocurriera en fechas similares en ambos lugares, ya que se encuentran prácticamente a la misma latitud; sin embargo, se encontró una diferencia de 27 días en la fecha media de nacimientos entre ambas colonias. Además, estas colonias responden a fotoperiodos diferentes, 13.6 h luz/día en Islas Todos Santos y 14.1 h luz/día en el Estero de Punta Banda. Al contrario, en las colonias de Double Point y Drakes Estero, San Francisco, que están separadas por una distancia semejante, tan sólo se encontró una diferencia entre las fechas medias de nacimientos de dos días, y ambas responden al mismo fotoperiodo (14.7 h luz/día). La diferencia encontrada en la temporalidad de los nacimientos entre las colonias de Islas Todos Santos y del Estero de Punta Banda podría deberse a diferencias en la condición corporal de las madres o a que las colonias se encuentren reproductivamente aisladas. Estas hipótesis se pusieron a prueba en los siguientes dos capítulos del presente trabajo.

3.4.2. Variación temporal en el Estero de Punta Banda

Para estudiar la fenología de los nacimientos de la foca común del Pacífico en el Estero de Punta Banda se analizaron las temporadas de cría de 2013 a 2016, y se utilizaron los datos ya publicados para 2011 y 2012 (Fernández-Martín et al. 2016). Aunque la mayoría de los pinnípedos presentan ciclos reproductivos anuales altamente sincronizados (Boness 1991), si se analiza con detalle la fenología se pueden encontrar variaciones interanuales (García-Aguilar y Auriolos-Gamboa 2003). Estas diferencias se pueden interpretar como una respuesta a variaciones ambientales, como por ejemplo el cambio climático (Jemison y Kelly 2001, Forrest y Miller-Rushing 2010, Cordes y Thompson 2013), o eventos El Niño (Bohorquez 2001). Durante los años de estudio sucedieron varios eventos oceanográficos anómalos que podrían haber afectado a la colonia de focas. La temporada de cría de 2011

fue precedida por un evento de La Niña moderado y la de 2012 por una Niña débil (NOAA 2017). Posteriormente, en el invierno 2013-2014 comenzó en Alaska una anomalía cálida en el Pacífico nororiental, conocida como el “Blob”, que se fue desplazando poco a poco hacia el sur hasta llegar a la Península de Baja California (Bond et al. 2015; Robinson 2016), y que afectó principalmente a la temporada de cría de 2015. Además, a finales de 2014, y con picos en 2015, se produjo un evento fuerte de El Niño (Robinson 2016; NOAA 2017), pues las anomalías calientes que caracterizan a este evento se superpusieron con las asociadas al “Blob”, afectando a la temporada de cría de 2015 y especialmente a la de 2016.

Se consideraron las variables ambientales, temperatura superficial del mar y concentración de clorofila, promedio de los meses anteriores a cada temporada de cría en la Bahía de Todos Santos, donde se encuentra el Estero de Punta Banda (Tabla 3). Esto debido a que las variaciones en la temperatura pueden afectar a la disponibilidad de alimento para las focas, ya sea por la disminución de presas o por el movimiento de éstas a otros lugares, mientras que la concentración de clorofila, que es una medida de la productividad primaria, puede ser indicativo de la abundancia de presas (Cury et al. 2008; Kirby y Beaugrand 2009).

La temporada de cría de 2013 no se vio afectada por ninguna anomalía, se caracterizó por una mayor sincronización de los nacimientos y un alto número de crías (Tabla 3). Sin embargo, las temporadas de cría de 2011 y 2012 fueron afectadas por el evento La Niña, y presentaron una temperatura superficial del mar más baja y una mayor concentración de clorofila que los otros años. Las condiciones anómalas pudieron afectar a la sincronización de los nacimientos (desviación estándar de la fecha media de nacimientos), la cual fue menor que en 2013, y al número de crías, que se redujo un poco; en cambio, no afectó a la temporalidad de los nacimientos. En los meses anteriores a la temporada de cría de 2014 se observó un aumento de la temperatura superficial del mar y una marcada disminución de la concentración de clorofila, lo que podría estar indicando una disminución de la disponibilidad de alimento, lo cual pudo hacer que las hembras tardasen más en alcanzar la condición óptima para que se produjera la implantación del blastocisto (Bowen et al. 2003). Esto también se refleja en un retraso en los nacimientos, como se ha observado en otros lugares (Bohorquez 2001; Jemison y Kelly 2001; Bowen et al. 2003; Reijnders et al. 2010),

y una desincronización de éstos. Los meses anteriores a la temporada de cría de 2015 se vieron afectados por el “Blob” y el Niño, ya que aumentó la temperatura superficial del mar en aproximadamente 1.5°C y siguió disminuyendo la concentración de clorofila. Se observó una mayor desincronización de los nacimientos; sin embargo, no se aprecia un retraso en la fecha media de nacimientos. Esto podría deberse a un aumento de crías prematuras; también se produjo un descenso considerable en el número de crías nacidas ese año. En la temporada de cría de 2016 las condiciones ambientales siguieron empeorando, esta vez por el efecto de un evento El Niño, por lo que continuó aumentando la temperatura superficial del mar y disminuyó notablemente la concentración de clorofila. Nuevamente se observó una desincronización de los nacimientos, y un descenso importante en el número de crías nacidas ese año con respecto a los anteriores.

Probablemente el cambio de las condiciones oceanográficas que comenzó en 2013 y que continuaron como anomalías muy calientes hasta 2015, fue provocando una disminución de la disponibilidad del alimento, lo cual pudo afectar a la condición de las hembras, haciendo que muchas no pudieran llevar a término su embarazo, reflejándose en una disminución del número de crías y la presencia de crías prematuras, con lanugo (Gjertz y Børset 1992; datos no mostrados). En los años 2015 y 2016, además, se encontraron crías de foca abandonadas, mientras que en los años anteriores (2011-2014) no se había registrado ningún abandono en esta colonia; por el contrario, en 2012 se observó que un par de hembras cuidaron de sus crías durante varios días aunque éstas habían muerto. Esto podría estar indicando que debido a la escasez de alimento o al aumento del esfuerzo requerido para conseguirlo, las hembras murieron o tuvieron que abandonar a sus crías para poder sobrevivir. La foca común del Pacífico es sensible a cambios en las condiciones oceanográficas, por lo que puede ser considerada una especie centinela de los ecosistemas marinos (Bossart 2011). Los efectos del “Blob” y del evento El Niño 2015, el cual es ahora considerado uno de los más intensos, también se apreciaron en otras especies, como es el caso del lobo marino de California (*Zalophus californianus*) y del lobo fino de Guadalupe (*Arctocephalus philippii townsendi*) en el archipiélago San Benito, Baja California, México. En estas colonias se redujo significativamente el número de crías nacidas de ambas especies en 2015; además, se encontraron cambios en el nicho isotópico que podrían estar

indicando que ambas especies tuvieron que realizar viajes de forrajeo más largos (Elorriaga-Verplancken et al. 2016).

CAPÍTULO 2: ESTADO DE SALUD Y NUTRICIONAL DE LAS CRÍAS DE *Phoca vitulina richardii* EN EL ESTERO DE PUNTA BANDA Y LAS ISLAS TODOS SANTOS

4.1. INTRODUCCIÓN

La foca común del Pacífico (*Phoca vitulina richardii*), al igual que otros mamíferos marinos, puede ser considerada una especie centinela de la salud de los ecosistemas marinos (Bossart 2011). Para evaluar la salud de las poblaciones, y establecer una línea de base para futuras comparaciones en el caso de cambios en los ecosistemas, debido a factores naturales o antropogénicos, se utilizan los valores de referencia hematológicos y de la química sanguínea (Lander et al. 2013); también se considera importante la morfometría (Fadely 1997; Trumble y Castellini 2002). Los parámetros sanguíneos de la foca común son sensibles a la edad, el sexo, la temporada, y la dieta (De Swart et al. 1995; Thompson et al. 1997; Trumble y Castellini 2002; Trumble et al. 2006), además se han hallado variaciones regionales e interanuales (Fadely 1997). Por ello, para evaluar el estado de salud de una población es fundamental establecer los rangos de referencia de los parámetros sanguíneos específicos para cada población (Trumble y Castellini 2002).

La condición corporal de las crías puede ser un buen indicador de la salud poblacional en el caso de los mamíferos, además puede estar influenciada por factores maternos (Green et al. 2010). En la foca común se ha visto que existe cierta relación entre la masa de las madres y la de sus crías al nacer (Bowen et al. 1994). Durante la lactancia el ambiente nutricional del que disponen las crías depende prácticamente en su totalidad del de la madre, por lo tanto se podría reflejar en las crías algún estrés ambiental que afectase a las madres (Trumble y Castellini 2001). Debido a esto los parámetros sanguíneos de las crías podrían estar influenciados por la condición de las madres. Por ejemplo, no se han encontrado diferencias entre los valores de sodio, zinc y ácido ascórbico entre el plasma materno y el fetal de la foca gris, *Halichoerus grypus* (Schweigert 1993).

No se tiene información sobre el estado de salud de esta especie en México, la zona más meridional de su distribución mundial. En la Bahía de Todos Santos hay dos colonias de focas, una en el continente, el Estero de Punta Banda y la otra en las Islas Todos Santos,

separadas por escasamente 16 km. A pesar de que esta distancia es pequeña, hay indicios que sugieren que el estado de salud y nutricional de los animales de estas colonias es diferente, como el desfase en la temporalidad de los nacimientos (Capítulo 1). Esto no debería suceder si se trata de la misma población de focas y si se encuentran a la misma latitud. Uno de los factores que influyen en la variación de esta temporalidad puede ser la disponibilidad del alimento, que afecta a la condición corporal de las madres (Bigg 1972; Temte 1986; Bohorquez 2001; Jemison y Kelly 2001; Bowen et al. 2003; Reijnders et al. 2010). Otras diferencias existentes entre las colonias son la exposición a la perturbación humana (Ruiz-Mar 2016), el tamaño de la población (Fernández-Martín et al. 2016; Tapia-Harris et al. 2017), y la composición de la dieta (Alamán-De Regules 2014).

El objetivo de este estudio fue describir y comparar los valores de parámetros sanguíneos, medidas morfométricas e índices de condición de las crías de foca de Islas Todos Santos y del Estero de Punta Banda nacidas en el año 2015.

4.2. MÉTODOS

Se capturaron 32 crías de foca en Islas Todos Santos ($31^{\circ}48'N$, $116^{\circ}47'W$), que representan el 20% del total de crías y 10 (48%) en el Estero de Punta Banda ($31^{\circ}46.5'N$, $116^{\circ}37'W$), Baja California (Figura 7), de febrero a abril de 2015. Para ello se contó con el permiso de colecta científica autorizada por la Dirección General de Vida Silvestre (SGPA/DGVS/08370/14) y el permiso otorgado por la Secretaría de Gobernación (UG/211/01022/2014). Las crías se capturaron manualmente durante las horas de marea baja del día en Islas Todos Santos y de la noche en el Estero de Punta Banda. Una vez inmovilizadas, sin el empleo de sedación, se procedió a la toma de muestra de sangre. Ésta se extrajo de la vena vertebral epidural, entre la tercera y la cuarta vértebra lumbar (Bossart et al. 2001). La extracción se hizo con el sistema de vacío, el procedimiento duró entre 5 y 7 minutos. Se utilizaron agujas con calibre 20 y longitud de 1.5 pulgadas y tubos Vacutainer; sin aditivos, para el estudio de química sanguínea (5 ml), y con solución anticoagulante de EDTA, para el examen hematológico (6 ml). La muestra de sangre sin anticoagulante se mantuvo a temperatura ambiente en un ángulo de 30 grados hasta

formarse el coágulo (de 30 minutos a 2 horas). La muestra de sangre con solución anticoagulante se mezcló por inversión 6 veces hasta homogenizar la sangre y fue refrigerada a 4°C hasta ser analizada. El tiempo transcurrido desde la toma de la muestra hasta su llegada al laboratorio fue de 3 a 7 horas.

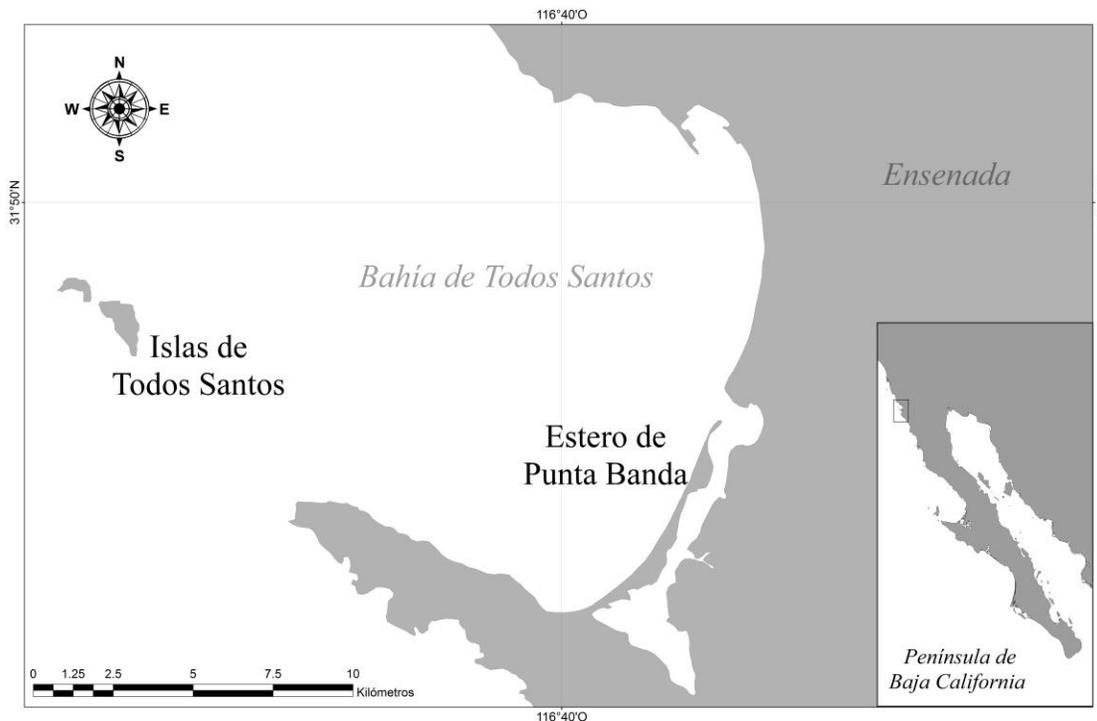


Figura 7. Ubicación de las colonias de focas común (*Phoca vitulina richardii*) en Baja California, México, en las que se tomaron muestras de sangre de los crías que fueron objeto de este estudio.

Durante el tiempo que se estuvo a las crías se las mantuvo a la sombra y se controló que respiraran con normalidad. Se determinó el sexo, por la localización de la abertura genital, y la edad (de 2 a 4 días, de 5 a 6 días, de 7 a 10 días, o mayores de 10 días), en función del estado del cordón umbilical (Dierauf et al. 1986; Tabla 4). Se registró el porcentaje del cuerpo de la cría que estaba cubierto por lanugo ($\leq 5\%$, 6-49% o 50-100%; Bowen et al. 1994) y si la cría presentaba alguna característica particular (heridas, desnutrición, etc).

Tabla 4. Criterios utilizados para la estimación de la edad de las crías en función del estado del cordón umbilical, basados en Dierauf et al. (1986).

Edad	Estado del cordón umbilical	Fotografía
1 día	Rosado con sangre	
2-4 días	Rosa blanquecino con la punta seca (color blanco)	
5-6 días	Seco y arrugado (color blanco)	
7-10 días	Ausente recientemente (quedan restos muy cortitos de cordón color blanco)	
>10 días	Ausente, cicatriz seca y curada	

Después de la extracción de sangre se procedió a tomar las medidas morfométricas de cada cría. Se pesaron con ayuda de una red y un dinamómetro. Además, se les tomaron las siguientes medidas (Figura 8): la longitud estándar rectilínea (LR) y curva (LC), el perímetro axilar (PA), máximo (PM) y a nivel de la cadera (PC), utilizando una cinta métrica; y el grosor de la capa de grasa de la zona dorsal a la altura del perímetro axilar (GCGA) y máximo (GCGM) (Trumble y Castellini 2002), utilizando un adipómetro, que mide el grosor de la piel y la capa de grasa subcutánea (Luque-Flores y Aurióles-Gamboa 2001).

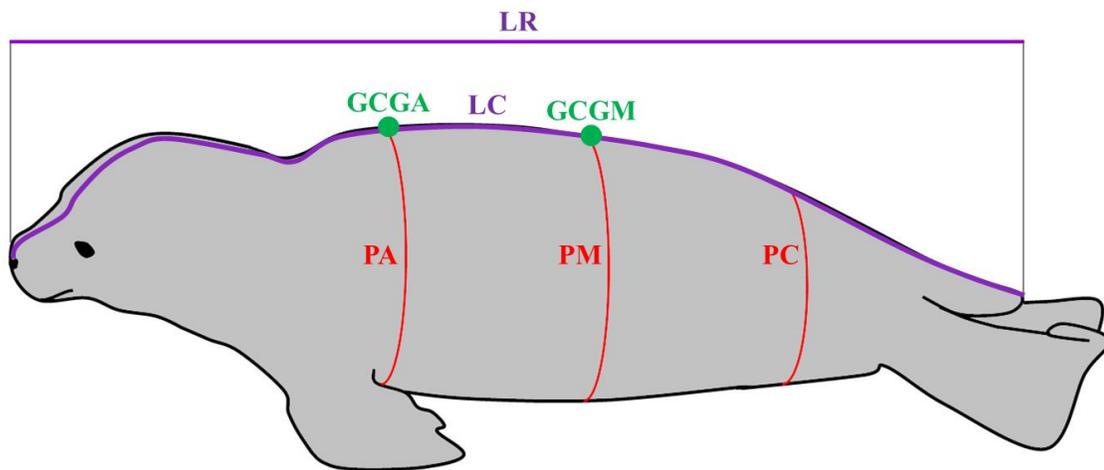


Figura 8. Medidas morfométricas de las crías de foca tomadas en campo. LR = longitud estándar rectilínea; LC = longitud curva; PA = perímetro axilar; PM = perímetro máximo; PC = perímetro a nivel de la cadera; GCGA = grosor de la capa de grasa de la zona dorsal a la altura del perímetro axilar; GCGM = grosor de la capa de grasa de la zona dorsal a la altura del perímetro máximo.

Las muestras de sangre fueron analizadas en el laboratorio clínico veterinario GOVALAB en Ensenada, Baja California. Para los hemogramas las muestras con anticoagulante en refrigeración se dejaron atemperar 10 minutos, y después fueron colocadas en un homogenizador automático durante 10 minutos. Una vez homogenizada la muestra se analizó en un contador automatizado de células Cell Dyn 1600, que trabaja

mediante el principio de impedancia. Los conteos celulares fueron corroborados mediante técnicas manuales utilizando un hemocitómetro o cámara de Neubauer. A partir de sangre entera con anticoagulante se realizó una dilución con solución Hayem para el conteo de eritrocitos, y con solución de Turk para el conteo de leucocitos. Para el conteo diferencial de leucocitos así como el estimado de plaquetas se realizó un frotis sanguíneo con tinción tipo Romanowsky Diff-Quick. Los conteos se realizaron con ayuda de un microscopio óptico Leica CME.

Las muestras recolectadas en tubos sin anticoagulante, una vez que se formó el coágulo, se centrifugaron en una centrífuga clínica a $1000\times G$ durante 10 minutos. Una vez separado el suero, se depositó en tubos estériles transparentes para registrar la presencia de artefactos en la muestra (hemólisis, lipemia, ictericia). Los electrolitos (Na, K, Cl) se determinaron utilizando un equipo EasyLyte PLUS, que trabaja bajo el principio de ion selectivo. Los demás analitos se determinaron mediante colorimetría utilizando un espectrofotómetro MYNDRAY BS-200 y reactivos de la Marca POINTE SCIENTIFIC.

4.2.1. Análisis de los datos

Se valoró si los artefactos encontrados en cada muestra pudieron afectar a las mediciones (Anexo II). La ictericia encontrada en las muestras no fue lo suficientemente alta para afectar las mediciones, en cambio se eliminó de los análisis una muestra por presentar un grado alto de hemólisis (+++), también se descartaron las mediciones de proteínas totales y globulinas de las muestras con grado 3 de lipemia (Anexo II). Se calculó la media, desviación estándar y error estándar para los parámetros sanguíneos y morfométricos de las crías de foca para cada una de las colonias y en conjunto; también se calcularon los intervalos de referencia para los parámetros sanguíneos como ± 2 desviaciones estándar alrededor de la media (Bossart et al. 2001; Trumble y Castellini 2002); no se consideraron tres crías debido a su mal estado de salud.

Se calcularon dos índices de condición:

- 1) Índice de condición corporal (IC): obtenido de la división de la masa medida en el campo entre la masa esperada Thompson et al. 1997).

La masa esperada (Me) se calculó obteniendo la regresión lineal entre la longitud estándar rectilínea (LR) y la masa (medidos en campo) para cada sexo (Figuras 9 y 10). Si IC es menor a 1 indica mala condición, y si es igual o mayor a uno indica buena condición (Thompson et al. 1997).

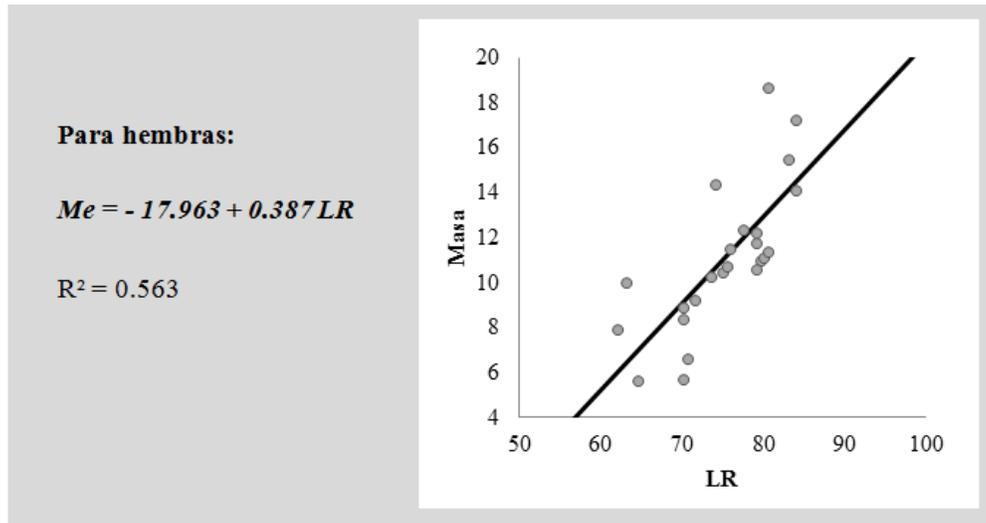


Figura 9. Regresión lineal entre la longitud estándar rectilínea (LR) y la masa (medidos en campo) para el cálculo de la masa esperada (Me) en el caso de las hembras.

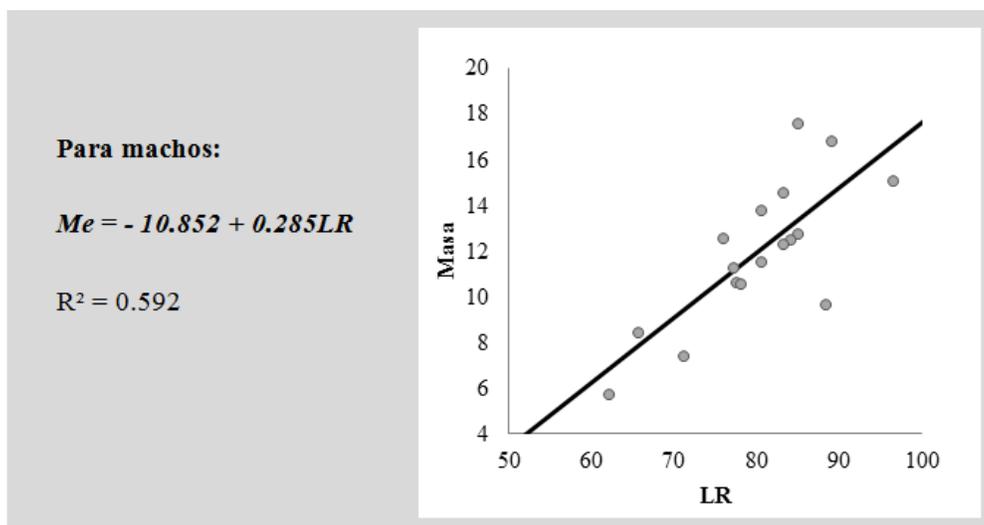


Figura 10. Regresión lineal entre la longitud estándar rectilínea (LR) y la masa (medidos en campo) para el cálculo de la masa esperada (Me) en el caso de los machos.

- 2) Porcentaje de grasa estimado (% grasa): se obtuvo a partir de la diferencia de volúmenes entre conos y conos truncados (Gales y Renouf 1994).

Para ello se utilizaron la LR, el PA, el PM, el PC, el GCGA y el GCGM, medidos en campo, y la distancia entre orificios nasales-PA, PA-PM, PM-PC, y PC-final de la cola se calcularon para cada foca, a partir de la proporción de la LR de estas distancias; esta proporción se obtuvo de fotografías como la que se muestra en la Figura 11.

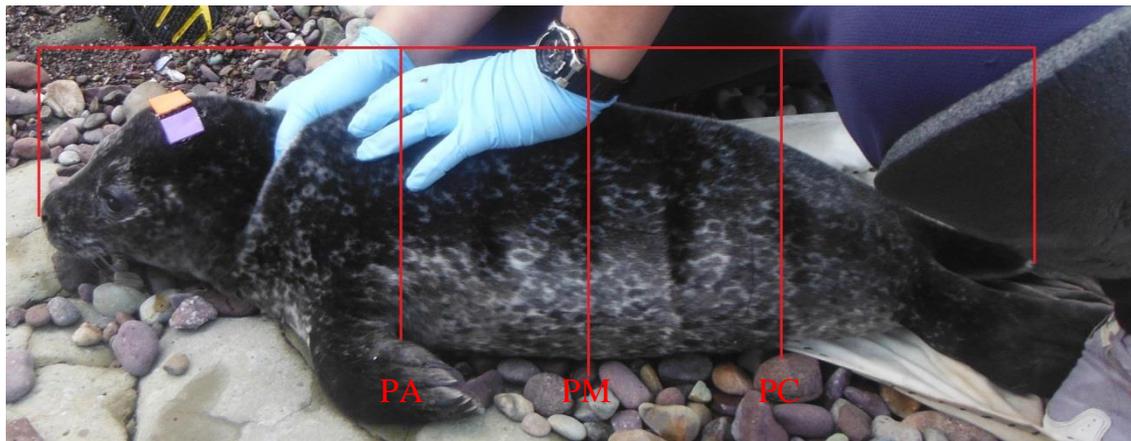


Figura 11. Fotografía ejemplo de cómo se obtuvieron las proporciones de la longitud estándar rectilínea que corresponde a las distancias entre los orificios nasales-PA, PA-PM, PM-PC, y PC-final de la cola.

La proporción de la LR que corresponde a la distancia entre orificios nasales-PA fue de 39.8%, entre PA-PM fue de 18.2%, entre PM-PC fue de 17.2%, y entre PC-final de la cola fue de 24.8%.

También se calcularon los radios a partir de los perímetros, y los radios sin el GCG de cada foca, para junto con las distancias anteriormente mencionadas calcular los volúmenes de los conos y conos truncados cuyo radio de la base se obtuvo considerando el GCG y los volúmenes de los conos y conos truncados cuyo radio se calculó sin el GCG (Figura 12). Calculando las diferencias de volumen se obtuvo el volumen de grasa, y con respecto al volumen total se obtuvo el porcentaje de grasa corporal.

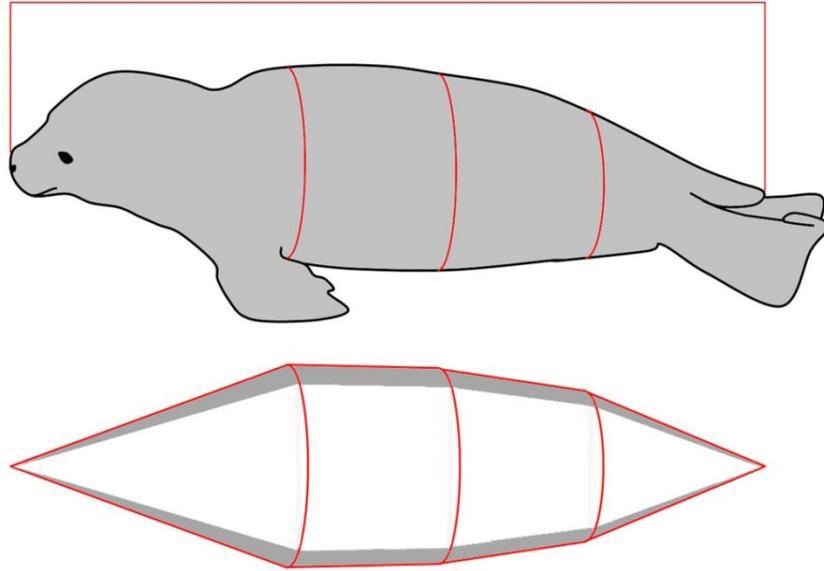


Figura 12. Representación de la estimación del porcentaje de grasa de las crías de foca a partir de conos y conos truncados.

Para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en el estado de salud y nutricional entre las crías de las dos colonias primero se probó la normalidad y la homogeneidad de varianzas de todas las variables. Después se hicieron pruebas ANOVA, en el caso de que se cumplieran los supuestos, y pruebas Kruskal-Wallis, en el caso de que no, para ver si las variables pudieran estar afectadas por el sexo o la edad de los individuos (nivel de significancia $p < 0.01$). Por último, se comprobó que se cumplieran los requisitos para hacer un análisis multivariado de la varianza, MANOVA, no alta correlación entre variables, normalidad multivariada y homocedasticidad. También se transformaron variables en el caso de ser necesario y se realizó el análisis utilizando un nivel de significancia $p < 0.05$.

4.3. RESULTADOS

Las medidas morfológicas y los índices de condición de las crías de foca en Islas Todos Santos, el Estero de Punta Banda y agrupados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Medidas morfométricas e índices de condición de las crías de *Phoca vitulina richardii* capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015.

	ITS			EPB			Agrupados	
	n	Media±SD	SE	n	Media±SD	SE	n	Media±SD
LR (cm)	30	76.23±7.58	1.38	9	81.94±4.93	1.64	39	77.55±7.41
LC (cm)	30	80.78±6.5	1.19	9	89.39±6.08	2.03	39	82.77±7.32
PA (cm)	30	54.6±4.96	0.91	9	61.83±7.99	2.66	39	56.27±6.46
PM (cm)	30	53.12±6.3	1.15	9	62.44±6.97	2.32	39	55.27±7.51
PC (cm)	30	41.38±4.88	0.89	9	46.61±7.11	2.37	39	42.59±5.81
GCGA (mm)	30	9.5±4.93	0.90	9	21.61±9.85	3.28	39	12.29±8.11
GCGM (mm)	30	10.45±5.92	1.08	9	25.33±10.29	3.43	39	13.88±9.46
Masa (kg)	30	10.82±2.32	0.42	9	14.48±3.71	1.24	39	11.66±3.08
% grasa	30	22.41±8.27	1.51	9	42.59±13.28	4.43	39	27.07±12.79
IC	29	1±0.18	0.03	9	1.08±0.21	0.07	38	1.02±0.19

LR = longitud estándar rectilínea; LC = longitud curva; PA = perímetro axilar; PM = perímetro máximo; PC = perímetro a nivel de la cadera; GCGA = grosor de la capa de grasa de la zona dorsal a la altura del perímetro axilar; GCGM = grosor de la capa de grasa de la zona dorsal a la altura del perímetro máximo; % grasa = porcentaje de grasa estimado; IC = índice de condición corporal.

Los rangos de referencia de los parámetros hematológicos y de la química sanguínea de las crías de foca en Islas Todos Santos, el Estero de Punta Banda y agrupados se muestran en las Tablas 6 y 7 respectivamente.

Se encontró que las variables que podrían verse afectadas por el sexo de los individuos fueron LR, LC, masa, glucosa, creatinina, y PT (proteínas totales); y que las que podrían verse afectadas por la edad fueron GCGA, GCGM, % grasa, colesterol, BT (bilirrubina total), ALT (alanina transaminasa), AST (aspartato aminotransferasa), amilasa, albumina, globulinas, relación A/G, cloro, DIF (diferencia de iones fuertes) y CGMH (concentración globular media de hemoglobina) (más información en Anexo IIIa). Por tanto, estas variables no se consideraron para buscar diferencias entre las colonias. Para ese fin se seleccionaron las variables urea, fósforo, potasio, sodio, hierro, hemoglobina, leucocitos, y IC, en función de la información que proporcionan (Anexo IIIb), para realizar el MANOVA. Las variables urea, fósforo, hierro y IC se transformaron con logaritmos neperianos, y hemoglobina y leucocitos por la potencia de Box y Cox para cumplir con la normalidad. Se encontraron diferencias significativas entre las colonias (Lambda de Wilks

F=5.61, $p<0.001$) en cuanto al estado nutricional, al hacer la prueba de Tukey (Anexo IIIc) se localizaron las diferencias en el fósforo, el potasio, el sodio y los leucocitos ($p<0.05$), y en el hierro fue significativo marginalmente ($p=0.057$).

Tabla 6. Parámetros hematológicos de las crías de *Phoca vitulina richardii* capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015.

	ITS				EPB				Agrupados (n=38)
	N	Media±SD	SE	Rangos	n	Media±SD	SE	Rangos	Rangos
Hematocrito (L/L)	29	0.54±0.04	0.01	0.46-0.61	9	0.51±0.04	0.01	0.42-0.6	0.45-0.61
Hemoglobina (g/L)	29	189.24±13.11	2.43	163.02-215.46	9	182.78±15.11	5.04	152.57-212.99	160.35-215.07
Eritrocitos ($\times 10^{12}/L$)	29	5.32±0.45	0.08	4.43-6.22	9	5.19±0.45	0.15	4.3-6.08	4.4-6.18
VGM¹ (fL)	29	100.97±4.45	0.83	92.07-109.88	9	98.5±6.72	2.24	85.05-111.95	90.21-110.57
CGMH¹ (g/L)	29	353.09±10.19	1.89	332.72-373.46	9	358.66±11.02	3.67	336.62-380.7	333.38-375.44
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	29	402.55±136.5	25.35	129.55-675.56	9	465.67±135.6	45.20	194.47-736.86	143.16-691.84
Sólidos totales (g/L)	29	75.24±4.67	0.87	65.9-84.59	9	78.44±4.67	1.56	69.11-87.78	66.38-85.62
Leucocitos ($\times 10^9/L$)	29	9.74±2.9	0.54	3.95-15.53	9	7.22±1.69	0.56	3.84-10.6	3.44-14.85
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu L$)	29	7.21±2.97	0.55	1.27-13.15	9	4.48±1.28	0.43	1.92-7.03	0.76-12.36
Bandas ($\times 10^3/\mu L$)	29	0.03±0.11	0.02	0-0.25	9	0.02±0.04	0.01	0-0.11	0-0.22
Linfocitos ($\times 10^3/\mu L$)	29	1.81±0.68	0.13	0.46-3.16	9	2.28±1.23	0.41	0-4.75	0.23-3.61
Monocitos ($\times 10^3/\mu L$)	29	0.50±0.23	0.04	0.04-0.97	9	0.27±0.21	0.07	0-0.69	0-0.94
Eosinófilos ($\times 10^3/\mu L$)	29	0.17±0.25	0.05	0-0.67	9	0.18±0.17	0.06	0-0.52	0-0.64
Basófilos ($\times 10^3/\mu L$)	29	0±0	0.00	0-0	9	0±0	0.00	0-0	0-0

VGM = volumen globular medio; CGMH = concentración globular media de hemoglobina; ¹ = calculado; ² = unidades convertidas; ³ = calculado a partir de la literatura

Tabla 7. Analitos bioquímicos de las crías de *P. v. richardii* capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015.

	ITS				EPB				Agrupados	
	n	Media±SD	SE	Rangos	n	Media±SD	SE	Rangos	N	Rangos
Glucosa (mmol/L)	29	8.14±1.82	0.34	4.49-11.78	9	9.39±2.19	0.73	5.01-13.78	38	4.51-12.36
Urea (mmol/L)	29	15.03±3.28	0.61	8.48-21.59	9	16.76±3.28	1.09	10.19-23.32	38	8.81-22.08
Creatinina (µmol/L)	29	73.57±19.6	3.64	34.36-112.77	9	64.22±20.89	6.96	22.44-106	38	31.28-111.42
Colesterol (mmol/L)	29	7.76±1.69	0.31	4.39-11.13	9	9.25±2.98	0.99	3.3-15.2	38	3.88-12.35
Triglicéridos (mmol/L)	29	2.32±1.6	0.30	0-5.52	9	2.19±0.8	0.27	0.59-3.78	38	0-5.17
BT (µmol/L)	29	33.91±25.34	4.70	0-84.58	9	22.4±20.06	6.69	0-62.51	38	0-80.06
BD (µmol/L)	14	13.57±8.77	2.34	0-31.11	6	16.18±19.57	7.99	0-55.32	20	0-39.25
BI ² (µmol/L)	14	21.11±28.11	7.51	0-77.33	6	6.6±5.81	2.37	0-18.22	20	0-65.59
ALT (U/L)	29	66.07±42.17	7.83	0-150.41	9	53.44±26.58	8.86	0.28-106.61	38	0-141.26
AST (U/L)	29	84.97±28.91	5.37	27.15-142.78	9	87.22±46	15.33	0-179.23	38	19.44-151.56
FA (U/L)	29	486.59±272.36	50.58	0-1031.31	9	355.22±169.14	56.38	16.94-693.5	38	0-967.44
Amilasa (U/L)	29	367.14±47.13	8.75	272.87-461.4	9	431.67±113.72	37.91	204.22-659.12	38	237.5-527.34
CK (U/L)	29	312.97±424.56	78.84	0-1162.08	9	273.44±201.63	67.21	0-676.7	38	0-1066.45
PT (g/L)	20	66.2±3.5	0.78	59.19-73.21	7	69.57±5.03	1.90	59.51-79.63	27	58.81-75.34
Albumina (g/L)	29	37.31±3.33	0.62	30.65-43.97	9	37.78±5.12	1.71	27.54-48.01	38	29.91-44.93
Globulinas ¹ (g/L)	20	29.15±2.83	0.63	23.48-34.82	7	31.43±2.94	1.11	25.56-37.3	27	23.78-35.7
Relación A/G ¹	20	1.28±0.21	0.05	0.86-1.7	7	1.23±0.27	0.10	0.68-1.78	27	0.82-1.72
Calcio (mmol/L)	29	2.75±0.28	0.05	2.19-3.32	9	2.75±0.21	0.07	2.32-3.18	38	2.22-3.28
Fósforo (mmol/L)	29	2.79±1.19	0.22	0.4-5.17	9	1.98±1.05	0.35	0-4.07	38	0.2-4.99
Potasio (mmol/L)	29	3.7±0.41	0.08	2.88-4.53	9	3.97±0.32	0.11	3.33-4.61	38	2.95-4.58
Sodio (mmol/L)	29	145.41±2.11	0.39	141.19-149.64	9	148.67±2.74	0.91	143.19-154.14	38	140.91-151.46
Cloro (mmol/L)	29	103.48±2.49	0.46	98.51-108.46	9	105.67±2.6	0.87	100.47-110.86	38	98.7-109.3
Bicarbonato (mmol/L)	29	19.86±3.25	0.60	13.37-26.36	9	19.78±1.99	0.66	15.81-23.75	38	13.9-25.79
Anión gap ¹ (mmol/L)	29	25.77±3.88	0.72	18.02-33.52	9	27.19±4.89	1.63	17.42-36.96	38	17.89-34.33
DIF ¹ (mmol/L)	29	41.93±1.56	0.29	38.82-45.04	9	43±2.96	0.99	37.08-48.92	38	38.22-46.15
Osmolalidad ¹ (mOsm/kg)	29	298.23±4.16	0.77	289.91-306.55	9	305.27±5.93	1.98	293.42-317.12	38	288.97-310.83
Hierro (µg/dL)	29	577.69±395.83	73.50	0-1369.35	9	337.11±281.98	93.99	0-901.07	38	0-1286.23

BT = bilirrubina total; BD = bilirrubina directa; BI = bilirrubina indirecta; ALT = alanina transaminasa; AST = aspartato aminotransferasa; FA = fosfatasa alcalina; CK = creatina quinasa; PT = proteínas totales; DIF = diferencia de iones fuertes; ¹ = calculado; ² = unidades convertidas; ³ = calculado a partir de la literatura

4.4. DISCUSIÓN

Se observaron valores más altos en las medidas morfométricas, la masa y el porcentaje de grasa estimado en las focas del Estero de Punta Banda que en las de Islas Todos Santos. Lo cual puede deberse a que el porcentaje de crías muestreadas de 7 a 10 días de edad en Islas Todos Santos fue mucho mayor que el de otras edades, mientras que en la muestra del Estero de Punta Banda había el mismo porcentaje de crías de edades de 7 a 10 días que mayores de 10 días. Es decir, en general las del Estero de Punta Banda tenían mayor edad. Los valores morfométricos en ambas colonias fueron bajos en comparación con los reportados para crías de Alaska (Anexo IVa), posiblemente debido a la edad de las crías, ya que tenían una edad promedio de unas 2 semanas (Trumble y Castellini 2002). A pesar de que las diferencias en las edades fueron del orden de días, las desigualdades morfométricas son posibles debido a que las crías de foca común ganan masa muy rápido durante el corto período de lactancia, y pierden masa durante el inicio del destete (Muelbert y Bowen 1993; Bowen et al. 2001). Por tanto, la masa y la grasa corporal no se pueden aceptar como una medida comparativa entre las colonias (Trumble y Castellini 2002). Lo cual concuerda con los resultados de las pruebas realizadas para descartar las variables afectadas por la edad y el sexo del análisis comparativo entre las colonias (Anexo IIIa). En estas pruebas se detectaron diferencias entre las edades en cuanto al GCG y el porcentaje de grasa. Además se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras en la LR, la LC y la masa, este dimorfismo podría representar la expresión temprana del observado en el tamaño de los adultos, ya que los machos son aproximadamente un 27% más pesados que las hembras (Bowen et al. 2001). El índice de condición corporal (IC) fue la única variable morfométrica que no se vio afectada por el sexo ni la edad, y por ello la única que se empleó en el análisis comparativo entre las colonias.

Los intervalos de referencia de los parámetros hematológicos y bioquímicos obtenidos en este estudio se superponen con los reportados para crías en libertad en Alaska (Trumble y Castellini 2002) y California (Lander et al. 2003; Greig et al. 2010; Anexo IVb y c). Las ligeras variaciones encontradas pueden deberse a la edad, el sexo, la temporada, la dieta, la región, el año, las técnicas de laboratorio (De Swart et al. 1995; Fadely 1997; Thompson et al. 1997; Trumble y Castellini 2002; Trumble et al. 2006). Además en el caso de la

bioquímica Trumble y Castellini (2002) utilizan el plasma en lugar del suero, y Lander et al. (2003) y Greig et al. (2010) calculan los intervalos de referencia de manera diferente.

Se encontraron diferencias en algunos parámetros sanguíneos entre las distintas edades (Anexo IIIa). Este es el caso de la BT que fue mayor en crías más jóvenes, los valores elevados en neonatos se producen de forma natural como resultado de la inmadurez funcional del hígado (Dierauf et al. 1986). Aumenta en crías de tres días y va disminuyendo hasta los 10 días donde alcanza valores normales (Dierauf et al. 1986). La CGMH se incrementó con la edad, posiblemente debido a la mayor necesidad de oxígeno, al incrementarse la frecuencia y la duración del buceo (Bossart y Dierauf 1990; Lander et al. 2003).

Las diferencias encontradas en el análisis multivariado entre las dos colonias podrían indicar que el aporte de minerales en la dieta de las madres es distinto (Bossart et al. 2001) dependiendo de la localidad. De manera que la dieta de las focas de Islas Todos Santos tendría un mayor aporte de fósforo y hierro, mientras que en el Estero de Punta Banda tendría un mayor aporte de sodio y potasio. Estas diferencias en los aportes de nutrientes podría explicarse por las diferencias encontradas entre las dietas de ambas colonias (Alamán-De Regules 2014). La diferencia en el recuento de leucocitos también podría explicarse por cambios en la composición de la dieta (Thompson et al. 1997). Sin embargo, estas diferencias no afectaron al índice de condición corporal (IC), no encontrándose diferencias significativas entre las colonias, lo que sugiere que los cambios observados no involucran diferencias en el contenido energético de la dieta (Thompson et al. 1997). A pesar de que en ambas colonias se encontró alguna cría que estaba sola y presentaba signos de desnutrición, en general en ninguna de las colonias se encontraron evidencias ni en los parámetros sanguíneos ni en el índice de condición que indicaran en conjunto que algún órgano o sistema se encontró comprometido. Por tanto, no parece que la salud o el estado nutricional de las crías se hayan visto comprometidos en alguna de las colonias.

CAPÍTULO 3: ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DE *Phoca vitulina richardii* EN MÉXICO

5.1. INTRODUCCIÓN

Phoca vitulina se distribuye en el hemisferio norte (Scheffer 1958; Bigg 1981). Se reconocen tres subespecies, las dos más abundantes son *P. v. vitulina* y *P. v. richardii*, que se encuentran en los océanos Atlántico y Pacífico, respectivamente (Committee on Taxonomy 2017). La diferenciación entre las focas de ambos océanos, que dio origen a las dos subespecies, se debió probablemente a la glaciación ocurrida hace 2-3 Ma (Stanley et al. 1996). Después de esta separación se cree que se produjo una colonización de ambos océanos desde el oeste hacia el este; posterior a la última glaciación se piensa que pudo producirse una recolonización desde el sur hacia las zonas que habían sido cubiertas por el hielo (Stanley et al. 1996). En el océano Pacífico, utilizando como marcador molecular ADN mitocondrial, se encontró que las relaciones filogeográficas de los linajes eran débiles, lo cual podría indicar una historia evolutiva y demográfica compleja de estas poblaciones (Westlake y O'Corry-Crowe 2002).

La foca común es una especie filopátrica (Schaeff et al. 1999; Härkönen y Harding 2001), no se ha observado que realice migraciones estacionales (Stewart y Yochem 1994); lo cual se ha reflejado en los resultados obtenidos mediante técnicas moleculares, ya que se ha encontrado que la diferenciación genética poblacional sigue un patrón de aislamiento por distancia (Lamont et al. 1996; Stanley et al. 1996; Westlake y O'Corry-Crowe 2002). En el océano Pacífico, existen ciertas discrepancias en cuanto a la distinción genética de las poblaciones, el grado de estructuración y el flujo genético, dependiendo del tipo de marcador molecular empleado. Con la utilización de microsatélites, se detectaron dos poblaciones en la costa este, una en la zona sureste de Alaska y el norte de la Columbia Británica (Burg et al. 1999; Herreman et al. 2009), y otra al sur de la Columbia Británica (Burg et al. 1999). En cambio, al emplear ADN mitocondrial, se han encontrado siete poblaciones: Kodiak, Prince William Sound, el sureste de Alaska (O'Corry-Crowe et al. 2003), norte de la Columbia Británica (Burg et al. 1999), costa de Washington (Lamont et al. 1996; Burg et al. 1999; Huber et al. 2010; Huber et al. 2012), Oregon, y California (Lamont et al. 1996). Además, empleando ambos marcadores moleculares, se han detectado

otras tres poblaciones en la zona de Puget Sound: el norte de Puget Sound, Hood Canal, y el sur de Puget Sound, que presentan diferencias en la temporalidad de los nacimientos (Huber et al. 2010; Huber et al. 2012).

En México, la foca común es poco abundante, si se compara con la abundancia que se encuentran en zonas más septentrionales, además se distribuye en diferentes islas, y en algunas playas de la costa de la Península de Baja California, separadas considerablemente, tratándose en la mayoría de los casos de colonias reproductoras (Lubinsky-Jinich et al. 2017). Debido a esto, al comportamiento filopátrico de la especie, y a las diferencias encontradas en la temporalidad de los nacimientos (Capítulo 1), se podría esperar la presencia de estructura en esta zona de su distribución. Es importante considerar que México constituye el límite sur de la distribución de la especie (Scheffer 1958; Bigg 1981). Es crucial examinar la estructura genética poblacional y la diversidad genética de estas colonias pequeñas y aisladas, especialmente si están en el borde de su área de distribución, debido a que si estas colonias tienen una diversidad genética baja, son más vulnerables a procesos estocásticos (Andersen et al. 2011). Una diversidad genética baja puede influir en la aptitud individual y, por tanto, en la viabilidad de la población, al aumentar la probabilidad de depresión por endogamia (Acevedo-Whitehouse et al. 2003; Reed y Frankham 2003). No se tiene información acerca de la diversidad genética, la estructura poblacional o el origen de las colonias de foca común en México, lo cual es importante para establecer medidas de conservación, sobre todo en el caso de poblaciones con estas características.

Se han utilizado muchos tipos de marcadores moleculares para el estudio de la diversidad y la estructura genética de poblaciones de animales silvestres. Cada marcador molecular presenta ventajas y desventajas con respecto a los otros, y proporcionan una información diferente (Burg et al. 1999). La utilización de dos marcadores moleculares, como aquí se propone, uno mitocondrial (secuenciación de la región control) y otro nuclear (microsatélites), que tienen diferentes tipos de herencia y tasas de mutación, puede dar una mejor visión de la estructura genética, además de proporcionar información adicional que no darían por separado (Cronin 1993; Burg et al. 1999). De esta manera, al examinar los patrones de variación en estos marcadores, uno de herencia materna (ADN mitocondrial) o

el otro biparental (microsatélites), se podrá obtener información acerca del comportamiento reproductivo de machos y hembras, y movimientos entre colonias (Cronin 1993). Además, como el ADN mitocondrial muta más despacio, proporciona una visión histórica de la estructura genética poblacional, y como los microsatélites lo hacen más rápido muestran cómo es el flujo de genes más recientemente. Por lo tanto, al tener distintas tasas de mutación pueden mostrar tendencias en distintas escalas de tiempo (Burg et al. 1999).

El objetivo de este estudio fue estimar los niveles de diversidad genética de las colonias y examinar la estructura genética poblacional de la foca común del Pacífico en México a partir de marcadores mitocondriales (secuenciación de la región control) y nucleares (microsatélites).

5.2. MÉTODOS

5.2.1. Trabajo de campo

Se obtuvieron muestras de tejido de 175 focas comunes en colonias a lo largo de su distribución en Baja California, México (Figura 13). Se tomaron muestras en cuatro islas y en una pequeña colonia en la costa; en Isla San Roque e Isla Natividad se consiguieron 40 muestras durante la temporada de cría de 2014, en Isla San Jerónimo se consiguieron 23 en 2014 y 17 en 2015, en Islas Todos Santos se consiguieron 30 en 2014 y 10 en 2015, y en el Estero de Punta Banda se consiguieron 2 en 2014, 6 en 2015 y 7 en 2016. Las muestras de tejido se obtuvieron de las extremidades posteriores con la ayuda de unas pinzas de uso veterinario. Todas fueron tomadas de crías, con el fin de eliminar cualquier sesgo que pudiera ser ocasionado por los movimientos de individuos entre las colonias (Huber et al. 2010). Se conservaron, en el campo, en etanol al 70% y refrigeradas (Amos 1997). En el laboratorio, se drenó el etanol y se mantuvieron en congelación a -70°C hasta su análisis. Se contó con el permiso de colecta científica autorizada por la Dirección General de Vida Silvestre (SGPA/DGVS/11616/13).

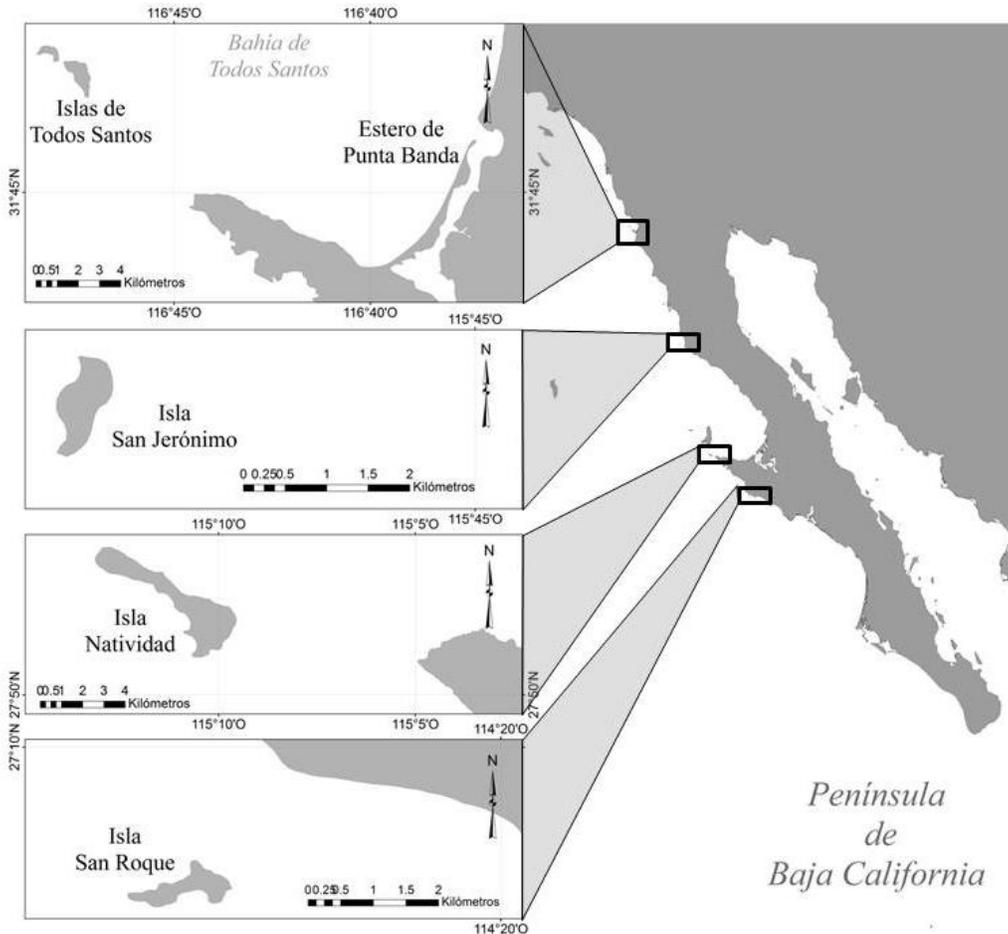


Figura 13. Península de Baja California, México, y localización de Isla San Roque, Isla Natividad, Isla San Jerónimo, Islas Todos Santos y Estero de Punta Banda, donde se encuentran las colonias de foca común (*Phoca vitulina richardii*) bajo estudio.

5.2.2. Trabajo de laboratorio

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología Molecular “Dr. Jorge de la Rosa Vélez” de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California, Baja California, México. El ADN se extrajo siguiendo el protocolo para muestras de tejido animal especificado en el kit DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN).

5.2.3. Análisis del ADN mitocondrial

Se amplificó una sección de 572 pares de bases de la región de control del ADN mitocondrial, utilizando los primers: TRO (modificado de Huber et al. 2010) 5'-CTCCCTAAGACTCAAGGAAG-3'; y PvH00034 (Westlake y O'Corry-Crowe 2002) 5'-TACCAAATGCATGACACCACAG-3'. Para la amplificación por PCR se utilizaron 45 ng de ADN genómico en un volumen de reacción final de 25 µl, que contenía: 11 mM Tris-HCl (pH 8.3), 55 mM KCl, 4.05 mM MgCl₂, 0.88 mM dNTP mix, 10 U de Taq ADN polimerasa, y 0.3 µM de cada primer. La amplificación se realizó en un Termociclador C1000 Touch™ (Bio-Rad), utilizando el siguiente perfil: desnaturalización inicial a 90 °C durante 2.5 min, seguido de 37 ciclos de 94 °C durante 30 s, 62 °C durante 1 min, y 72 °C durante 1 min, con un paso de extensión final de 5 min a 72 °C, después se enfrió a 4 °C. Se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, 5 µl de producto de PCR, se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron bajo luz ultravioleta. Los productos de PCR amplificados se purificaron usando el kit QIAquick PCR Purification (QIAGEN, Valencia, California, EE. UU.). Posteriormente se realizó la secuenciación automatizada de ambas cadenas en un analizador genético ABI Prism® Capillary Electrophoresis Genetic Analyzers (SeqXcel Inc., San Diego, CA). Las secuencias se revisaron, alinearon y editaron con los programas ChromasPro 2.0.1, Seaview 4.4.2 y UltraEdit32 6.10^a.

5.2.4. Análisis de los microsatélites

Los 175 individuos se genotiparon con nueve loci de microsatélites (Tabla 8). Los primers forward fueron marcados con diferentes fluorocromos (6-FAM, VIC y NED). Las amplificaciones se realizaron en reacciones de PCR de 25 µl, que contenían: 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 2 mM dNTP mix, 10 U de Taq ADN polimerasa, 0.068 µM de cada primer, y 90 ng de ADN genómico. Todos los loci de microsatélites se amplificaron con el mismo perfil de temperatura en un Termociclador C1000 Touch™ (Bio-Rad), que consistió en un paso de desnaturalización inicial a 94 °C durante 2.5 min, seguido de 38 ciclos de 94 °C durante 30 s, 53 °C durante 30 s, y 72 °C durante 40 s, y un paso de extensión final de 5 min a 72 °C, después se enfrió a 4 °C. 7 µl de producto de PCR se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron bajo luz ultravioleta. Los productos de PCR amplificados se combinaron, y

se genotiparon en un secuenciador automático ABI Prism® Capillary Electrophoresis Genetic Analyzers (SeqXcel Inc., San Diego, CA). Posteriormente se realizó la asignación de alelos utilizando el programa GeneMarker 1.85.

Tabla 8. Microsatélites usados en el análisis de foca común (*Phoca vitulina richardii*), rangos de tamaño (pb), número de alelos (A), tipo de repetición, primers (con fluorocromo), y referencias.

Locus	Rango (pb)	A	Tipo de repetición	Primers 5'-3'		Referencia
				Forward	Reverse	
Hg6.1	139-161	8	(CA) ₁₁ TA(CA) ₂₀	TGCACCAGAGCCTA AGCAGACTG ^{VIC}	CCACCAGCCAGT TCACCCAG	Allen et al. 1995
Hg8.10	178-180	2	(CA) ₂₄	AATTCTGAAGCAGC CCAAG ^{6-FAM}	GAATTCTTTTCT AGCATAGGTTG	Allen et al. 1995
M11A	145-149	3		TGTTTCCCAGTTTTA CCA ^{6-FAM}	TACATTCACAAG GCTCAA	Hoelzel et al. 1999
ZcwE12	161-165	3	(GT) ₂₇	AAGTATACATGGTG GGATGGAGAAC ^{VIC}	CACCTTTGAGAG AACCAAGTACA	Hoffman et al. 2007
Pv11	148-166	7	(CA) ₂₀	GTGCTGGTGAATTA GCCATTATAAG ^{NED}	CAGAGTAAGCAC CCAAGGAGCAG	Goodman 1997
PvcE	101-109	4	(CA) ₁₆	CCTGGACTTTGTTTA TACCT ^{VIC}	GCATGAGTTCAT CTAGGGA	Coltman et al. 1996
Pv9	160-169	3	(GT) ₁₄	TAGTGTGGAAATG AGTTGGC ^{VIC}	CTGATCCTTGTG AATCCCAGC	Allen et al. 1995
PvcA	101-107	4	(CA) ₁₅	GGGTGAACAGGATT TATCC ^{6-FAM}	GTGCTAGATAAC AATCCTAC	Coltman et al. 1996
Pv17	151-157	4	(TC) ₁₀	TTAACAACTCCATTA TCATTTGAGCC ^{NED}	CTGGTGTGTTAG TGAGGGTTCTGC	Goodman 1997

5.2.5. Análisis estadístico de los datos

5.2.5.1. Secuencias del ADN mitocondrial

Para describir la diversidad genética del ADN mitocondrial se calculó el número de haplotipos (nH), el número de haplotipos únicos (U), el número de sitios variables (V), la diversidad haplotípica (DH) así como su desviación estándar (SD), la diversidad nucleotídica (π) con su SD, y el número promedio de diferencias pareadas nucleotídicas ($\bar{\pi}$ DP) y su SD, en el programa ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005).

Para evaluar el grado de estructuración de la población, se analizó la diferenciación genética entre colonias, para lo que se calcularon los valores de F_{ST} y Φ_{ST} entre colonias,

utilizando 16000 permutaciones, en ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005). Se construyó una red de expansión mínima (MSN), a partir del número de diferencias de nucleótidos apareadas entre los haplotipos obtenidas en ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005), para analizar la estructura filogeográfica, al comparar las relaciones filogenéticas entre haplotipos y la ubicación geográfica de cada haplotipo (Escorza-Treviño y Dizon 2000; Schramm et al. 2009).

Para determinar si se encuentran los haplotipos hallados en México en otras zonas de la distribución de la foca más septentrionales, y las relaciones que hay entre ellos, se compararon con los que se encontraron en GenBank, y con los haplotipos reportados en los trabajos de Lamont et al. (1996) y Dishman (2011).

Además, se estimó el estadístico D de Tajima (D) en ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005), y la prueba Mantel de aislamiento por distancia entre las colonias localizadas en las islas, para lo cual se midieron las distancias más cortas posibles entre islas en el Google Earth. Esta prueba se realizó en el programa IBDWS Version 3.23 (Jensen et al. 2005), con 16000 aleatorizaciones.

5.2.5.2. *Microsatélites*

De los nueve loci microsatélites analizados para el análisis estadístico se utilizaron ocho, ya que el locus Pv17 fue descartado porque presentó alelos nulos. En cuanto a la diversidad genética a partir de los microsatélites, se obtuvo el número medio de alelos (A), el número de alelos privados (AP), la heterocigosidad observada (H_O), y la heterocigosidad esperada (H_E , Nei 1987) para cada locus en todas las colonias usando el programa GenAlEx 6.5 (Peakall y Smouse 2012). La riqueza alélica (AR) para cada locus y cada colonia se calculó utilizando el programa FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 2001), y el coeficiente de endogamia por locus y colonia, utilizando 16000 permutaciones, en ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005). Las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (HWE; valor $p < 0.05$) se evaluaron de forma global, para cada colonia y para cada locus, utilizando el método de cadena de Markov, mediante el programa GENEPOP 4.2 (Rousset 2008). En caso de desequilibrio, con este mismo programa se evaluó si era debido a un déficit o

exceso de heterocigotos, para los análisis en GENEPOP se usaron como parámetros 1000 batches con 5000 iteraciones por cada uno.

Se examinó la estructura genética poblacional, realizando un análisis exploratorio mediante el programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000), que utiliza un algoritmo bayesiano de agrupamiento. Las ejecuciones se basaron en 150000 iteraciones después de una longitud de burnin de 50000, y 20 réplicas por cada valor de K. Además, se estimaron las diferencias genéticas pareadas (F_{ST}) a partir de ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier et al. 2005), utilizando 16000 permutaciones. Para ver la relación entre las colonias se construyó un árbol utilizando NEIGHBOR en PHYLIP 3.6 (Felsenstein 2005), con 5000 iteraciones.

Al igual que con el otro marcador molecular, se realizó la prueba Mantel de aislamiento por distancia entre todas las colonias, excepto la del Estero de Punta Banda, en el programa IBDWS Versión 3.23 (Jensen et al. 2005), con 16000 aleatorizaciones. También se utilizó el programa MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004) para identificar posibles errores de genotipado (presencia de alelos nulos, amplificación diferencial de alelos, tartamudeo de la polimerasa o errores tipográficos).

5.3. RESULTADOS

5.3.1. ADN mitocondrial

Se logró secuenciar un fragmento de 572 pb de 175 focas de 5 colonias a lo largo de su distribución en México, que abarca de la posición 16303 a la 47 del genoma mitocondrial de foca común publicado por Árnason y Johnsson (1992). Dentro de esta región se encontraron 15 sitios variables que definieron 18 haplotipos (Tabla 9), de los cuales 14 fueron transiciones y hubo un evento de inserción entre las posiciones 16484 y 16485 en los haplotipos H03, H08, H10, H14, H15, y H16; y en el haplotipo H02, como opción alternativa, además de una delección en la posición 16476. Se encontró un haplotipo, H01, presente en todas las colonias, que además fue el más abundante en las colonias de las islas, que representa el 57.5% en Islas Todos Santos de los individuos analizados, 72.5% en Isla San Jerónimo, 55% en Isla Natividad, y 70% en Isla San Roque; mientras que en el Estero

de Punta Banda sólo representó al 20% de los individuos analizados. Hubo once haplotipos únicos en total, la mayoría sólo lo presentaba un individuo. El haplotipo único más abundante (H02) lo presentaron 11 individuos del Estero de Punta Banda, de manera que representa el 73.3% de los individuos analizados de esta colonia (Tabla 10).

Tabla 9. Secuencias de la región control del ADN mitocondrial alineadas de 175 focas comunes de México. Se muestran los 15 sitios variables encontrados en el fragmento de 572 pb, con un evento de inserción (-). Los 18 haplotipos se nombraron como H seguido un número del 01 al 18. La numeración de las posiciones se basó en el genoma mitocondrial de *Phoca vitulina vitulina* publicado por Árnason y Johnsson (1992).

	1	1	1	1	11	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Posición	6	6	6	6	66	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	4	4	4	4	44	5	5	5	5	5	6	6	6	6
	6	7	7	7	88	5	5	6	8	8	1	3	9	9
	0	1	2	6	45	0	2	9	0	8	9	2	5	7
H01	C	G	T	T	-	G	G	T	G	A	A	T	G	T
H02	.	.	.	C
H03	C
H04	G
H05	A
H06	.	.	C
H07	G	.	.	.
H08	C	A	C
H09	A
H10	C	G	.	.	.
H11	C	.	.
H12	C
H13	.	.	C	.	.	.	A
H14	C	G
H15	C	A
H16	T	A	.	.	C	.	.	.	A	.	.	C	.	.
H17	.	A	A	.	.	C	.	.
H18	.	A	A	.	.	C	A	C

La diversidad haplotípica varió entre 0.448 ± 0.134 en el Estero de Punta Banda y 0.667 ± 0.071 en Isla Natividad, y la diversidad nucleotídica entre 0.0010 ± 0.0009 en Isla

San Roque y 0.0024 ± 0.0017 en Islas Todos Santos. Mientras que el número promedio de diferencias pareadas nucleotídicas varió entre 0.601 ± 0.489 en Isla San Roque y 1.355 ± 0.856 en Islas Todos Santos (Tabla 10).

Tabla 10. Resumen de la diversidad genética utilizando ADN mitocondrial de *Phoca vitulina richardii* en México. Número de muestras (n), número de haplotipos (nH), número de haplotipos únicos (U), sitios variables (V), diversidad haplotípica (DH) y su desviación estándar (SD), diversidad nucleotídica (π) y su SD, número promedio de diferencias pareadas nucleotídicas (\bar{n} DP) y su SD, y la D de Tajima (D) y su valor-p.

Colonia	n	nH (U)	V	DH (SD)	π (SD)	\bar{n} DP (SD)	D (p)
EPB	15	3 (2)	6	0.448 (0.134)	0.0019 (0.0015)	1.086 (0.755)	-1.441 (0.079)
ITS	40	8 (4)	8	0.651 (0.078)	0.0024 (0.0017)	1.355 (0.856)	-1.091 (0.149)
ISJ	40	9 (3)	9	0.474 (0.097)	0.0012 (0.0010)	0.679 (0.530)	-2.102 (0.003)
IN	40	6 (1)	4	0.667 (0.071)	0.0015 (0.0012)	0.855 (0.618)	-0.107 (0.474)
ISR	40	6 (1)	4	0.499 (0.091)	0.0010 (0.0009)	0.601 (0.489)	-0.761 (0.265)
Total	175	18	15	0.626 (0.041)	0.0018 (0.0013)	1.005 (0.680)	-1.712 (0.011)

EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque.

La estructura genética encontrada a partir de la región control mostró diferencias altamente significativas ($p < 0.000001$) entre la colonia del Estero de Punta Banda y el resto de colonias con el estimador Φ_{ST} (Tabla 11). Además, se encontraron diferencias significativas entre la colonia de Islas Todos Santos y el resto de colonias, y entre las colonias de Isla San Jerónimo e Isla Natividad (Tabla 11).

En la red de expansión mínima (MSN, Figura 14) se identificó a H01 como el haplotipo ancestral. Este fue el haplotipo más abundante, el que estuvo presente en todos los lugares de muestreo, y del que parten la mayoría de haplotipos. Los otros dos haplotipos más abundantes son el H03, que comparten todas las islas, y el haplotipo H02, que sólo se ha encontrado en el Estero de Punta Banda. En el diagrama se puede observar una ligera polarización (Figura 14). Por un lado se encuentran los haplotipos de Islas Todos Santos y por otro los de Isla Natividad y Isla San Roque, ya que comparten la mayoría de sus haplotipos, mientras que la colonia de Isla San Jerónimo parece estar en medio ya que comparte haplotipos con las otras tres islas (Figura 14). La colonia del Estero de Punta Banda sólo presenta tres haplotipos, dos de ellos únicos, H02 que es el más abundante y H18 que se encuentra bastante separado de los otros dos haplotipos (Figuras 14 y 15).

Tabla 11. Diferenciación genética entre colonias de *Phoca vitulina richardii* en México utilizando el ADN mitocondrial, Φ_{ST} debajo de la diagonal, y el valor p encima de la diagonal. * indica donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$).

	EPB	ITS	ISJ	IN	ISR
EPB		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
ITS	0.318*		0.044	<0.001	<0.001
ISJ	0.404*	0.033*		0.049	0.320
IN	0.386*	0.083*	0.027*		0.514
ISR	0.434*	0.083*	0.005	<0.001	

EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque.

El haplotipo ancestral, H01, se encontró en California, donde se nombró como G8 (Stanley et al. 1996) y en Oregon, donde se denominó 32 (Lamont et al. 1996). De los otros haplotipos sólo se encontraron en otros lugares: el H04 en California (G10; Stanley et al. 1996); el H06 en California (19; Lamont et al. 1996); el H11 en el oeste de la isla de Vancouver (WVI5; Burg et al. 1999), y en California (6; Lamont et al. 1996); y el H17 en Oregon (G; Dishman 2011). Los otros 13 haplotipos sólo se encontraron en México.

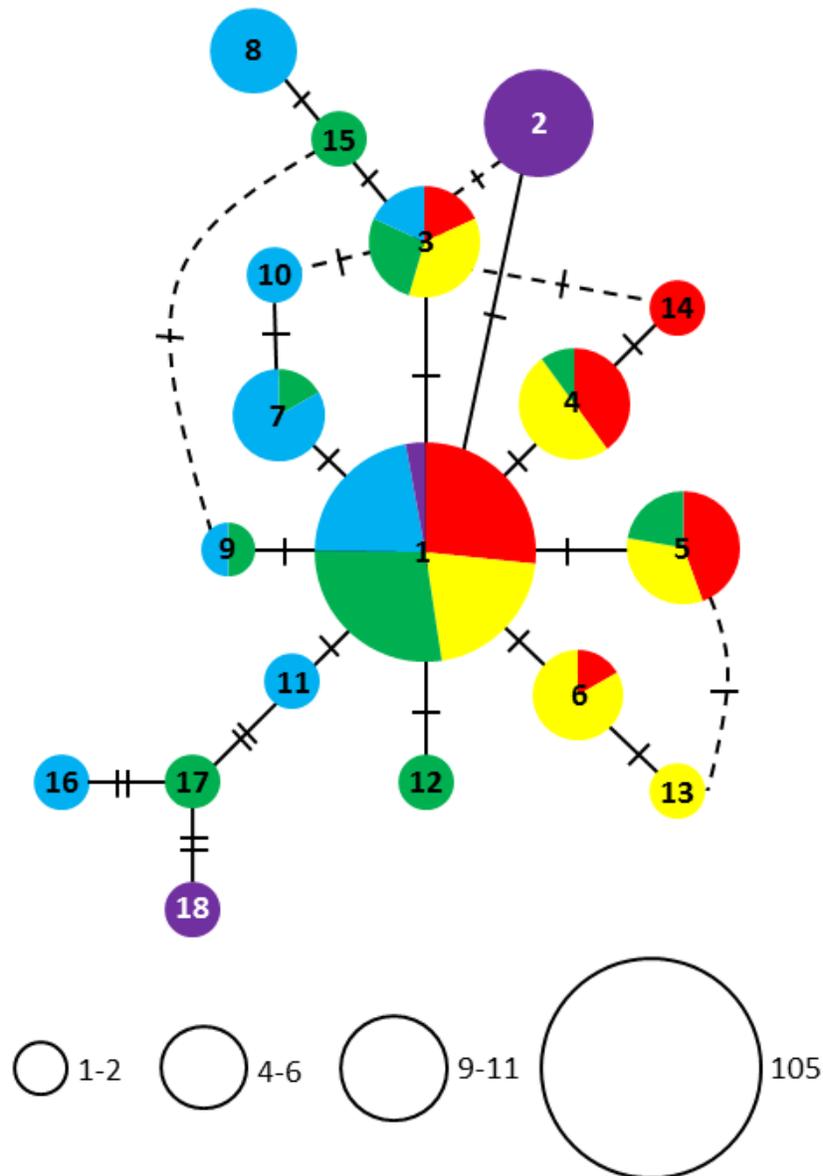


Figura 14. Red de expansión mínima (MSN) para los haplotipos de *Phoca vitulina richardii* de México. Los círculos representan los haplotipos y su tamaño es proporcional al número de individuos que los presentan. Las líneas continuas interconectan los haplotipos representando las relaciones filogenéticas (las líneas discontinuas son las relaciones alternativas), mientras que las líneas perpendiculares indican el número de diferencias nucleotídicas. Los colores representan el lugar donde se encontraron, en morado el Estero de Punta Banda, en azul Islas Todos Santos, en verde Isla San Jerónimo, en amarillo Isla Natividad, y en rojo Isla San Roque. Los números representan a los haplotipos (por ejemplo, 1 = H01, 2 = H02, etc).

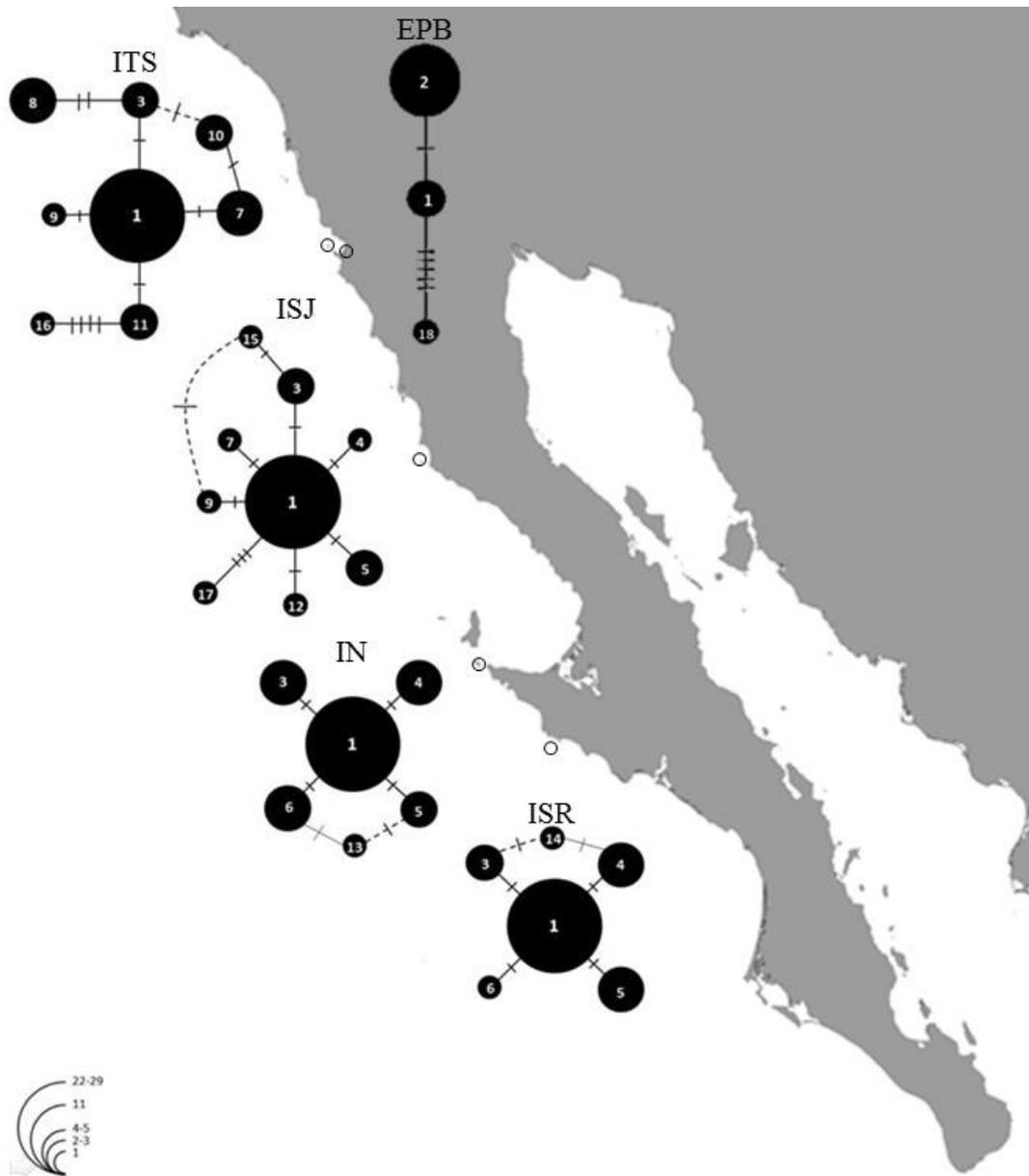


Figura 15. Red de expansión mínima (MSN) para los haplotipos de *Phoca vitulina richardii* de México por colonias. EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque. Los círculos representan los haplotipos y su tamaño es proporcional al número de individuos que los presentan. Las líneas continuas interconectan los haplotipos representando las relaciones filogenéticas (las líneas discontinuas son las relaciones alternativas), mientras que las líneas perpendiculares indican el número de diferencias nucleotídicas. Los números representan a los haplotipos (por ejemplo, 1 = H01, 2 = H02, etc).

La prueba de Tajima fue significativa en Isla San Jerónimo ($p < 0.05$, Tabla 10). Al realizar la prueba Mantel no se encontró aislamiento por distancia entre las colonias de las islas ($Z=41.71$, $R=0.41$, $p=0.21$).

5.3.2. *Microsatélites*

El ADN de 175 focas de 5 colonias de México se analizó utilizando 9 microsatélites (Tabla 8). De éstos, se descartó para los análisis el locus Pv17, debido a que hubo seis muestras que no amplificaron por la presencia de alelos nulos, que también se detectó con MICRO-CHECKER. Los demás microsatélites polimórficos presentaron entre 2 y 7 alelos, sólo Isla San Jerónimo presentó un alelo privado. La diversidad genética obtenida a partir de los 8 loci se muestra en el Anexo V y la Tabla 12; la riqueza alélica (AR) varió entre 3.331 en Isla San Roque a 3.819 en Isla San Jerónimo; la heterocigosidad observada (H_O) se encontró entre 0.506 en Isla Natividad y 0.567 en el Estero de Punta Banda; la heterocigosidad esperada (H_E , Nei 1987) varió entre 0.520 en Isla San Roque y 0.556 en Islas Todos Santos; y el coeficiente de endogamia (FIS) varió entre -0.044 en el Estero de Punta Banda y 0.075 en Islas Todos Santos, en ninguno de los casos fue significativo ($p < 0.05$).

Se encontraron nueve desviaciones significativas del HWE en las 54 comparaciones que se realizaron (Anexo VI). En el total de las colonias, en Islas Todos Santos y en Isla Natividad, la desviación del HWE se debió a un déficit de heterocigotos. También se encontró una desviación del HWE en el locus PvcE, debida a un déficit de heterocigotos. MICRO-CHECKER detectó una posible presencia de alelos nulos en este microsatélite en Islas Todos Santos, Isla San Jerónimo, Isla Natividad, e Isla San Roque.

En cuanto a la estructura genética encontrada con los ocho microsatélites a partir de las comparaciones pareadas con el estadístico F_{ST} , cuyos valores variaron entre 0.001 y 0.038, se detectaron diferencias significativas entre: la colonia del Estero de Punta Banda y el resto de colonias, la colonia de Islas Todos Santos y la de Isla San Roque, y la colonia de Isla San Jerónimo y la de Isla Natividad (Tabla 13). Mediante STRUCTURE se obtuvo la gráfica de la Figura 16, donde cada línea vertical representa un individuo, y los colores la probabilidad de pertenecer a uno de los dos grupos definidos por el programa, el patrón que

se muestra se repitió en 14 de las 20 réplicas. K igual a dos fue el número de grupos con mayor valor de Delta K, después de la corrección realizada por el método de Evanno (Earl y VonHoldt 2012). La relación entre las colonias se muestra en el árbol sin raíz de la Figura 17, obtenido por el método de neighbour-joining. En las Figuras 16 y 17, se puede apreciar cómo la colonia del Estero de Punta Banda es la más diferente al resto de las colonias, siendo la más similar Isla San Jerónimo; por otro lado las colonias de Isla San Roque e Isla Natividad son las más similares entre sí; mientras que la de Islas Todos Santos se encuentra en medio de Isla San Jerónimo e Isla Natividad-Isla San Roque. En cuanto a la prueba Mantel, no se encontró aislamiento por distancia entre las colonias de las islas ($Z=14.43$, $R=0.31$, $p=0.27$).

Tabla 12. Resumen de la diversidad genética de *Phoca vitulina richardii* en México, utilizando ocho loci microsatélites. Número de muestras (n), número medio de alelos (A), riqueza alélica (AR), número de alelos privados (AP), heterocigosidad observada (H_O), heterocigosidad esperada (H_E , Nei 1987), y coeficiente de endogamia (F_{IS}).

Colonia	n	A	AR	AP	H_O	H_E	F_{IS}
EPB	15	3.625	3.625	0	0.567	0.525	-0.044
ITS	40	4.000	3.564	0	0.522	0.556	0.075
ISJ	40	4.125	3.819	1	0.544	0.549	0.023
IN	40	3.750	3.514	0	0.506	0.536	0.069
ISR	40	3.500	3.331	0	0.522	0.520	0.009
Promedio	35	3.800	3.570	0.2	0.532	0.537	0.026

El F_{IS} no fue significativo en ninguna colonia ($p<0.05$); EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque.

Tabla 13. Diferenciación genética F_{ST} , debajo de la diagonal, y el valor p, encima de la diagonal, entre colonias de *Phoca vitulina richardii* en México utilizando ocho loci microsatélites. * indica donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$).

	EPB	ITS	ISJ	IN	ISR
EPB		0.002	0.038	<0.001	0.004
ITS	0.038*		0.367	0.109	0.025
ISJ	0.017*	0.002		0.011	0.407
IN	0.051*	0.007	0.014*		0.217
ISR	0.029*	0.012*	0.001	0.004	

EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque.

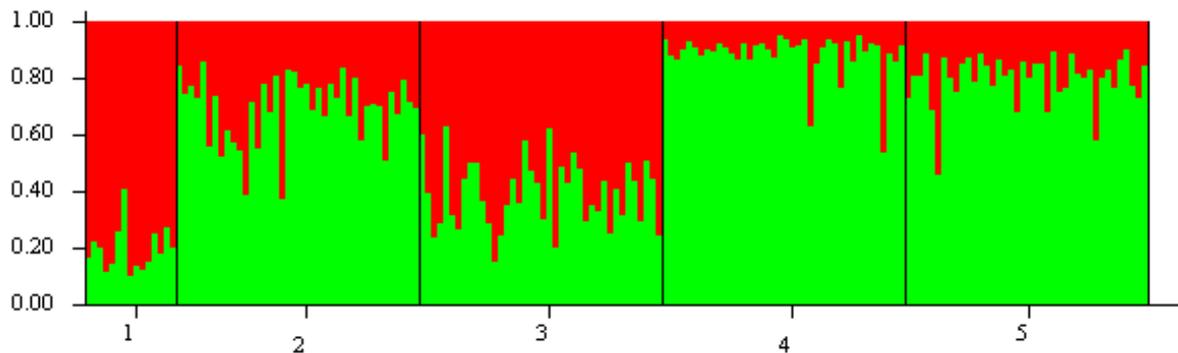


Figura 16. Gráfica de STRUCTURE (Pritchard et al. 2000) para $k = 2$. Cada línea vertical representa un individuo, y los colores la probabilidad de pertenecer a uno de los dos grupos definidos por STRUCTURE. Los números simbolizan las colonias; 1 del Estero de Punta Banda, 2 de Islas Todos Santos, 3 de Isla San Jerónimo, 4 de Isla Natividad, y 5 de Isla San Roque.

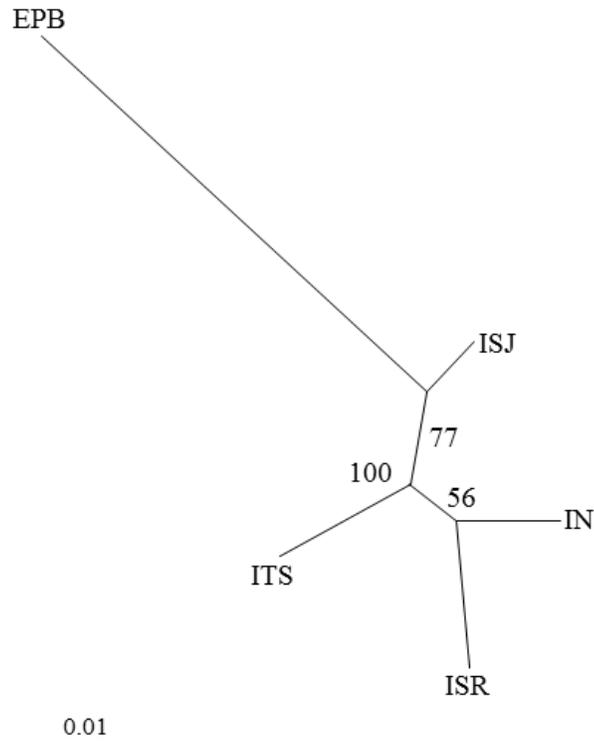


Figura 17. Árbol sin raíz por el método de neighbour-joining para *Phoca vitulina richardii* en cinco colonias de México. La distancia genética utilizada muestra la relación entre las colonias (EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque)

5.4. DISCUSIÓN

5.4.1. Diversidad genética

La diversidad genética de la foca común en México, encontrada con el ADN mitocondrial, es baja tanto de forma global, como en las distintas colonias. El número de sitios variables encontrados fueron tan sólo 15, mientras que en otros lugares de su distribución en el Pacífico se han encontrado 52 (Huber et al. 2010), 60 (Burg et al. 1999), hasta 89 (O'Corry-Crowe et al. 2003); el menor número de sitios variables encontrados fueron 30 (Lamont et al. 1996). El tamaño de muestra en algunos de estos estudios fue menor (54-128 vs 175; Lamont et al. 1996; Burg et al. 1999), y el fragmento de la región

control del ADN mitocondrial analizado más corto (320-520 vs 572 pb; Lamont et al. 1996; Burg et al. 1999; O'Corry-Crowe et al. 2003; Huber et al. 2010) que en el presente trabajo.

La diversidad haplotípica de la foca en México, que va de 0.448 a 0.667 (Tabla 10), es menor que lo reportado para la subespecie, que en general es mayor a 0.8 (Westlake y O'Corry-Crowe 2002; O'Corry-Crowe et al. 2003; Huber et al. 2010; Dishman 2011), salvo para los estuarios costeros del estado de Washington, donde fue de 0.73 (Huber et al. 2010), y llega hasta 0.983 en Prince William Sound (Westlake y O'Corry-Crowe 2002). También es menor a la diversidad encontrada en el extremo norte de la distribución de *Phoca vitulina vitulina*, que va de 0.758 a 0.943; excepto en el caso de Svalbard, la población más septentrional, donde se encontró una diversidad haplotípica de 0.363, esta población mostró evidencias de haber pasado por un cuello de botella (Andersen et al. 2011).

La diversidad nucleotídica de la foca en México, 0.0024 a 0.0010 (Tabla 10), es muy inferior a la encontrada para la subespecie en otros lugares que en general es mayor a 0.009 (Westlake y O'Corry-Crowe 2002; Huber et al. 2010; Dishman 2011), aunque varía entre 0.005, en los estuarios costeros del estado de Washington, 0.022 en Isla Gertrude (Huber et al. 2010), hasta 0.052 en el centro de Oregon (Dishman 2011). También es menor a la diversidad nucleotídica encontrada en *P. v. vitulina*, que va de 0.011 a 0.004; excepto en el caso de Svalbard donde fue de 0.001 (Andersen et al. 2011). La baja diversidad tanto haplotípica como nucleotídica puede estar indicando que hubo un evento fundador por uno o pocos linajes, o un cuello de botella reciente (Grant y Bowen 1998). El número promedio de diferencias pareadas nucleotídicas encontradas en la foca en México varió entre 0.601 y 1.355 (Tabla 10), lo que significa que las diferencias entre haplotipos son pequeñas, y esto podría indicar que la baja diversidad genética se deba más a un evento fundador que a un cuello de botella.

En cuanto a la diversidad obtenida a partir del análisis de los microsatélites, se obtuvo una heterocigosidad esperada de entre 0.520 y 0.556 (Tabla 12), un poco baja comparada con la encontrada para *P. v. richardii* en otras zonas más septentrionales de su distribución donde varía entre 0.51 y 0.87 (Burg et al. 1999; Dishman 2011; Huber et al. 2012), siendo en la mayoría de los casos superior a 0.619 (Dishman 2011; Huber et al. 2012). En cambio,

es similar a lo reportado para *P. v. vitulina*, en el extremo norte de su distribución, donde varía entre 0.515 y 0.607 (Andersen et al. 2011).

Por otro lado, al combinar todas las muestras no se cumplió con el HWE (Anexo VI), encontrando además un déficit de heterocigotos, y valores significativos del coeficiente de endogamia ($FIS=0.037$). Lo anterior podría indicar presencia de alelos nulos, amplificación diferencial de alelos, selección en contra de los heterocigotos, endogamia y/o efecto Wahlund (Van Oosterhout et al. 2004). Debido a que el valor de FIS es pequeño y a que no fue significativo cuando se obtuvo para las colonias por separado, el que no se cumpla con el HWE hace sospechar que la reducción de la heterocigosidad observada, se deba a la presencia de estructura, conocido como un efecto Wahlund. Cuando se analizaron por separado las colonias se encontró que Islas Todos Santos e Isla Natividad no estaban en HWE, y presentaban un déficit de heterocigotos (Anexo VI), esto podría deberse a distintas causas como se mencionó anteriormente. El loci PvcE no mostró HWE en ninguna de las colonias de las islas, y en todas las islas mostró un déficit de heterocigotos, lo que podría ser un indicio de la presencia de alelos nulos. Sin embargo, es poco probable que esto pudiese afectar al equilibrio en Islas Todos Santos e Isla Natividad, ya que no afectó a las colonias de Isla San Jerónimo e Isla San Roque. Por tanto, en Islas Todos Santos e Isla Natividad se podría estar produciendo un efecto Wahlund, es decir, que podría haber una subestructura dentro de estas colonias. En el caso de Islas Todos Santos se podría explicar porque se vio que las focas junto con su cría permanecían en las mismas playas, a diferencia de lo que sucedía en Isla San Roque, donde se movían de una playa a otra; esto podría ser una señal de que las focas en Islas Todos Santos no se aparean aleatoriamente, y por tanto podría haber cierta subestructura. Podría ser un caso similar al de *Neophoca cinerea*, donde se encontró filopatría extrema en el caso de las hembras, lo cual se reflejó en la estructuración de la población a pequeña escala (Campbell et al. 2007). En cuanto a la colonia de Isla Natividad no se realizaron observaciones durante la temporada de cría, sin embargo, se ha observado una disminución de las colonias costeras en México de 2009 a 2016, y un aumento del tamaño de las colonias insulares, como es el caso de Isla Natividad (Lubinsky-Jinich en elaboración); por lo que en Isla Natividad se podrían estar mezclando dos subpoblaciones, aunque aparentemente sólo fuera una. Finalmente, no se encontró aislamiento por distancia con el marcador nuclear, por lo que se podría pensar en un

movimiento más complejo de los individuos entre las colonias, lo que apoyaría esta última hipótesis.

5.4.2. Estructura poblacional

Se detectó estructura entre las colonias de la foca común del Pacífico en México a partir tanto del marcador mitocondrial como del nuclear, aunque se encontraron ciertas diferencias. Con base en los valores de Φ_{ST} de las comparaciones pareadas entre colonias (Tabla 11), obtenidos a partir de ADN mitocondrial, se encontraron diferencias entre la colonia del Estero de Punta Banda y el resto, entre la colonia de Islas Todos Santos y el resto, y entre la colonia de Isla San Jerónimo y la de Isla Natividad. Los valores de Φ_{ST} indican el grado de diferenciación genética entre poblaciones (Excoffier et al. 1992). Se encontró una mayor diferenciación genética entre la colonia del Estero de Punta Banda y las colonias insulares (0.318-0.434; Tabla 11), que entre las colonias de las islas (0.027-0.083; Tabla 11), donde la estructura es más débil. Los valores de Φ_{ST} están dentro de los rangos encontrados para la foca común del Pacífico en otros lugares (Lamont et al. 1996; Burg et al. 1999; Westlake y O'Corry-Crowe 2002; Huber et al. 2010). Aunque el valor de ϕ_{ST} , 0.318, encontrado entre las colonias del Estero de Punta Banda e Islas Todos Santos es bastante grande para dos colonias separadas por escasamente 16 km. Esto podría deberse a que el pequeño tamaño de la colonia del Estero de Punta Banda, unos 99 individuos (Fernández-Martín et al. 2016), le hace más susceptible a la deriva génica, afectando a la estructura de la población (Goodman 1998), al favorecer la diferenciación entre colonias. No se encontraron diferencias significativas entre las colonias de Isla San Roque e Isla Natividad, y Isla San Roque e Isla San Jerónimo, lo cual podría deberse a que no ha pasado el tiempo suficiente como para que la colonia Isla San Roque diverja de las otras dos, es decir, esta información sugiere que Isla San Roque fue la última en colonizarse. Ya que el índice Φ_{ST} se calcula a partir de información nucleotídica de los haplotipos y sus frecuencias (Excoffier et al. 1992), detecta la estructura más fácilmente cuando ha transcurrido el tiempo suficiente como para que las poblaciones diverjan y se manifiesten las diferencias (Escorza-Treviño y Dizon 2000).

En cuanto a la estructura que se encontró utilizando los microsatélites, a partir de los valores de F_{ST} de las comparaciones pareadas entre colonias (Tabla 13), fue igual a lo

obtenido a partir de ADN mitocondrial para el caso de la colonia del Estero de Punta Banda, ya que se encontraron diferencias entre esta colonia y el resto. Sin embargo, varió para el resto de colonias, manteniéndose solamente las diferencias significativas encontradas entre las colonias de Islas Todos Santos e Isla San Roque, y entre la colonia de Isla San Jerónimo e Isla Natividad. Los valores de F_{ST} , que informan sobre la diferenciación genética entre poblaciones (Wright 1951), variaron entre 0.012 y 0.051, por lo que se puede considerar que la estructuración es débil, lo cual se aprecia también en los resultados obtenidos con STRUCTURE (Figura 16). Estos valores fueron siempre mayores entre la colonia del Estero de Punta Banda y las colonias insulares, que entre estas colonias, al igual que con el ADN mitocondrial. En cambio, los valores de diferenciación genética fueron menores a los encontrados con el otro marcador, aunque están dentro de lo reportado en otros lugares para *P. v. richardii* (Burg et al. 1999; Huber et al. 2012). Sin embargo, son inferiores a los encontrados en *P. v. vitulina* (Goodman 1998; Andersen et al. 2011), estas diferencias entre las subespecies podrían deberse a su distinta historia demográfica, ya que *P. v. vitulina* ha pasado por cuellos de botella y eventos fundadores (Stanley et al. 1996; Goodman 1998) que al fomentar la deriva genética (Goodman 1998) pueden hacer que se detecte una mayor diferenciación entre colonias.

En general, se encuentra estructura a pesar de ser un área pequeña si la comparamos con otros estudios a lo largo de la costa del Pacífico, que abarcan un área más amplia (Lamont et al. 1996; Burg et al. 1999; Westlake y O'Corry-Crowe 2002). Ahí no se detecta una estructura genética muy marcada, lo cual se podría deber a la mezcla de las poblaciones que pudo existir antes de la última glaciación (Burg et al. 1999). También pueden influir que son poblaciones de gran tamaño, que no han sufrido procesos demográficos severos, con una distribución continua y donde puede haber una migración de los machos que impida la detección al utilizar microsatélites (Burg et al. 1999). El hecho de que en México se encuentre estructura, aunque se trate de un área más reducida, puede deberse a que las colonias se encuentran aisladas en islas y algunos puntos dispersos en la costa, son colonias más pequeñas que en el resto de su distribución (Lubinsky-Jinich et al. 2017), se encuentran en el extremo de la distribución de la especie (Scheffer 1958; Bigg 1981), y no parece que haya habido mezcla de las poblaciones, por lo que se puede ver en la Figura 14; todo esto puede favorecer la deriva génica (Goodman 1998), y por tanto la diferenciación de las

poblaciones. También es importante considerar que en este estudio, a diferencia de los realizados anteriormente, con excepción de los estudios de Huber et al. (2010 y 2012), se tomaron las muestras de crías durante la temporada en que están siendo amantadas. Esto elimina el sesgo que pudiera producirse al muestrear individuos inmaduros y adultos en cualquier temporada del año, ya que éstos pueden hacer viajes de duración variable, durante la época no reproductiva (Huber et al. 2012).

El caso de las colonias del Estero de Punta Banda y de Islas Todos Santos es particular, ya que como se mencionó anteriormente están separadas por unos 16 km, y a pesar de esto se encuentran diferencias significativas en ambos marcadores moleculares, por lo que podría considerarse el Estero de Punta Banda una población diferente. Entre las colonias de la Bahía Todos Santos, a diferencia de casos similares, no se observa ningún tipo de barrera física u oceanográfica actualmente (Andersen et al. 2011) o en el pasado (Lamont et al. 1996; Goodman 1998; Huber et al. 2010; Huber et al. 2012). Tampoco se conoce con seguridad el origen de la población del Estero de Punta Banda (lo cual se discutirá más adelante). Sin embargo, existen diferencias importantes entre ambas colonias: en la dieta, por lo que pudieran alimentarse en distintas zonas (Alamán-De Regules 2014); en el tamaño de la población (Fernández-Martín et al. 2016; Lubinsky-Jinich et al. 2017), lo que podría provocar que por deriva génica la colonia del Estero de Punta Banda divergiera con mayor rapidez con respecto al resto; y en la temporalidad de los nacimientos (Capítulo 1). Los factores antes mencionados podrían favorecer el aislamiento reproductivo de estas colonias, propiciando la estructura genética a pesar de la escasa distancia que las separa, como en el caso de Puget Sound (Temte 1994; Lamont et al. 1996; Huber et al. 2010; Huber et al. 2012).

En cuanto a las diferencias encontradas entre los dos marcadores moleculares, con los microsatélites se encontró una estructura genética menos marcada que con el ADN mitocondrial, esto coincide con lo que se ha encontrado en otros lugares para la *Phoca vitulina* (Burg et al. 1999; O'Corry-Crowe et al. 2003; Herreman et al. 2009). Estas diferencias podrían estar indicando que existe un flujo de genes entre las colonias, debido al movimiento de los machos principalmente, que impide la detección de estructura al utilizar microsatélites (Burg et al. 1999; Herreman et al. 2009); y que las hembras muestran una

mayor filopatría, de manera que son las que contribuyen a la estructura detectada con el ADN mitocondrial (Herreman et al. 2009). Por otro lado, se ha observado recientemente una disminución de las colonias costeras en México y un aumento del tamaño de algunas colonias insulares, lo que podría sugerir que los animales se están moviendo (Lubinsky-Jinich en elaboración); por lo que si se estuvieran mezclando las colonias, podría ser otra causa por la que puede no detectarse estructura con los microsátélites.

5.4.3. Filogeografía

Para estudiar la filogeografía de *Phoca vitulina* en México se construyó la red de expansión mínima (Minimum Spanning Network, MSN), que se basa en el principio del árbol parsimonioso de Wagner, pero en lugar de solamente utilizar los haplotipos como puntas de las ramas los utiliza además como nodos (Excoffier y Smouse 1994), explicando mejor la conexión entre los haplotipos (Excoffier et al. 1992). El MSN (Figura 14), en general, presenta una forma de estrella, además en México se encontró una baja diversidad genética, tanto nucleotídica como haplotípica, y se obtuvo un valor de la D de Tajima significativo negativo (Tabla 10); el cual da información sobre si una secuencia de ADN evoluciona aleatoriamente (de manera neutra) o lo hace bajo un proceso no aleatorio, como algún tipo de selección o si hubo algún cambio demográfico en la población. Estas características sugieren que puede tratarse de un evento fundador de unos pocos linajes, principalmente el H01, y que la población sufrió una expansión demográfica reciente. Las focas llegaron a Baja California probablemente durante la última glaciación, ya que en ese momento perdieron gran parte de su hábitat más septentrional, quedando reducido a zonas costeras dispersas, que les sirvieron de refugio. Se cree que estas zonas también pudieron funcionar como puntos de dispersión a lo largo de una cadena (Westlake y O'Corry-Crowe 2002). Sin embargo, en el caso de México no parece que haya habido una mezcla notable entre las colonias o con las situadas más al norte; como parece que sí sucedió en el resto de su distribución costera en el Pacífico (Burg et al. 1999).

En el MSN (Figura 14) se identificó un haplotipo ancestral, el H01, que es claramente el más abundante, y del que parten los demás haplotipos (Excoffier y Smouse 1994). La mayoría de las conexiones entre los haplotipos sólo se debe a una mutación, por lo que no parece que haya haplotipos perdidos. Salvo en la rama del haplotipo H11, lo que puede

estar sugiriendo una pérdida de haplotipos por deriva génica en algún momento de su historia evolutiva, probablemente en la colonia Islas Todos Santos que es la que más espacios vacíos presenta (Figuras 14 y 15). La falta de haplotipos en las conexiones de esta colonia no parece deberse al tamaño de muestra, ya que fue 40 en todas las islas, y esta es la colonia más pequeña de las cuatro islas, por lo menos la mitad que las otras (Lubinsky-Jinich en elaboración). Esta colonia (Islas Todos Santos) en el MSN (Figura 15), además de presentar algunos espacios entre haplotipos, tiene haplotipos con frecuencias mayores a 1 y es la colonia con mayor diversidad nucleotídica, lo que sugiere que fue la primera isla colonizada desde el norte (la mayoría con el haplotipo H01, y con menor frecuencia el H11 y H17), posteriormente parece que se produjo una expansión de la población, de ahí su forma de estrella. El valor de la D de Tajima para esta colonia fue negativo y no significativo (Tabla 10) por lo que podría inferirse que la colonia de Islas Todos Santos se encuentra en equilibrio demográfico (Schmidt y Pool 2002), es decir, se interpretaría como una colonia establecida, lo cual apoyaría esta hipótesis. La colonia de Isla San Jerónimo, en cambio, presenta una forma de estrella con muchos haplotipos que salen del ancestral con frecuencia pequeña, y donde se obtuvo un valor de la D de Tajima significativo negativo (Tabla 10), estas características pueden indicar que la colonia sufrió una expansión demográfica reciente (Schmidt y Pool 2002). Además comparte haplotipos con Islas Todos Santos, todo esto podría apuntar a que la colonia de Isla San Jerónimo se pudo establecer simultánea o posteriormente a la colonia de Islas Todos Santos. Más tarde se estableció la colonia de Isla Natividad a partir de la colonia de Isla San Jerónimo ya que comparten muchos haplotipos, y de Isla Natividad llegaron a Isla San Roque, ya que comparten la mayoría de sus haplotipos.

El caso de la colonia del Estero de Punta Banda es un tanto especial ya que su haplotipo más abundante (H02) es único, presenta muy poca abundancia del haplotipo ancestral (H01), y de otro haplotipo único (H18), bastante separado de los otros dos (Figuras 14 y 15). Esto podría indicar que, al ser una población pequeña, ha sufrido más el efecto de la deriva génica o que habría podido sufrir un cuello de botella, aunque no se ha encontrado ninguna evidencia que apoye esta última hipótesis. Con respecto al origen de la colonia del Estero de Punta Banda no está claro, aunque no parece ser producto de una incursión de focas de poblaciones más septentrionales diferente a la que dio origen a las colonias

insulares de México, ya que ninguno de los haplotipos encontrados en esta colonia se encuentran en las poblaciones más norteñas, salvo el H01, pero también es el más abundante en las otras colonias estudiadas en México. Además, el haplotipo más cercano a H18 es el H17, presente en Isla San Jerónimo. Por lo que el origen de la colonia del Estero de Punta Banda podría ser un evento fundador de focas procedentes de Isla San Jerónimo, con las que además se encuentran menos diferencias al emplear el marcador nuclear, que al compararlas con el resto de las islas (Figura 17). Otra hipótesis es que proceden de Islas Todos Santos, ya que es la colonia más cercana.

6. DISCUSIÓN GENERAL

Al estudiar la temporalidad de los nacimientos en las colonias del Estero de Punta Banda y de Islas Todos Santos, situadas a la misma latitud, se encontró un desfase de 27 días en la fecha media de nacimientos (Capítulo 1). Las hembras de estas colonias además parecen responder a un fotoperiodo diferente, que es el estímulo que desencadena la implantación del blastocisto (Temte 1994); 14.1 h luz/día en el Estero de Punta Banda y 13.6 h luz/día en Islas Todos Santos. La diferencia en la temporalidad de los nacimientos entre estas colonias podría deberse a diferencias en la condición corporal de las madres o a que las colonias se encuentren reproductivamente aisladas.

Se han observado diferencias en la dieta de las focas de ambas colonias (Alamán-De Regules 2014), que podrían tener un efecto en la condición corporal de las hembras, y por tanto puede afectar a la implantación del blastocisto. Ya que la implantación se produce cuando las hembras alcanzan la condición adecuada, adelantando la implantación (Reijnders et al. 2010) o retrasándola (Bowen et al. 2003), provocando por tanto cambios en la temporalidad de los nacimientos (Bigg 1972; Temte 1986; Bohorquez 2001; Jemison y Kelly 2001; Bowen et al. 2003; Reijnders et al. 2010). Sin embargo, no parece que esta sea la hipótesis más probable, ya que no se han encontrado diferencias entre el estado de salud de las crías de foca común del Estero de Punta Banda y de Islas Todos Santos que indiquen que las focas de la colonia del Estero de Punta Banda estén más desnutridas que las de Islas Todos Santos (Capítulo 2), y por tanto que puedan explicar el retraso en los nacimientos en la colonia del Estero de Punta Banda.

En cambio, el que estas colonias respondan a un fotoperiodo diferente, y por eso exista una diferencia importante en la temporalidad de los nacimientos, soporta la hipótesis de que se trate de colonias reproductivamente aisladas, de manera que cada una conserva su propia temporalidad reproductiva (Temte 1994). El fundamento para ello es que se han encontrado diferencias genéticas significativas entre la colonia del Estero de Punta Banda y la de Islas Todos Santos, tanto con el empleo de marcadores nucleares como mitocondriales (Capítulo 3). Un caso similar se reportó en Puget Sound, donde se encontraron diferencias en la temporalidad de los nacimientos entre colonias cercanas, que pudieron ser explicadas por diferencias genéticas entre las colonias (Lamont et al. 1996; Huber et al. 2010; Huber et al.

2012). Asimismo el desfase en la temporalidad de los nacimientos podría favorecer el aislamiento reproductivo de estas colonias, ya que las hembras entran en estro dos semanas después de destetar a sus crías (Bonner 1979) y permanecen receptivas durante 3-5 semanas (Bigg 1972).

7. CONCLUSIONES GENERALES

- © En México, los nacimientos de foca común siguen una clina latitudinal de sur a norte.
- © De México a Washington la fecha media de nacimientos se retrasa 8.1 días por grado de latitud hacia el norte.
- © Se encontró un desfase de 27 días, en la fecha media de nacimientos, entre dos colonias situadas a la misma latitud, la del Estero de Punta Banda y la de Islas Todos Santos, pues parecen responder a un fotoperiodo diferente.
- © Se observaron ciertas variaciones en la temporada de cría en el Estero de Punta Banda entre 2011 y 2016, el aumento de la temperatura superficial del mar y la disminución de la concentración de clorofila, podrían indicar una menor disponibilidad de alimento para las madres, que puede reflejarse en un retraso de los nacimientos en 2014, y una disminución de la producción de crías en 2015 y 2016.
- © Se encontraron diferencias nutricionales entre las focas del Estero de Punta Banda y las de Islas Todos Santos, éstas pueden ser debidas a dietas con distinto aporte de minerales (fósforo, hierro, sodio y potasio). Sin embargo, no se encontraron diferencias en el índice de condición corporal entre las focas del Estero de Punta Banda y las de Islas Todos Santos, lo cual sugiere que las diferencias encontradas no implican diferencias en el contenido energético de la dieta, no afectando tampoco al estado de salud de los individuos.
- © En general la foca común en México tiene una baja diversidad genética, y parece proceder de un evento fundador que comenzó en Islas Todos Santos.
- © La estructura genética encontrada con el marcador nuclear fue menos marcada que con el marcador mitocondrial, lo que podría estar indicando que existe un flujo de genes entre las colonias debido principalmente al movimiento de los machos, o deberse al posible movimiento reciente de individuos de colonias costeras a colonias insulares.

- © Las focas del Estero de Punta Banda presentan claras diferencias con las del resto de las colonias, tanto con el marcador nuclear como con el mitocondrial. Los haplotipos que poseen están bastante separados, lo que podría indicar que esta población se ha visto afectada por la deriva génica.

8. RECOMENDACIONES PARA LA CONSERVACIÓN Y EL MANEJO DE *Phoca vitulina richardii* EN MÉXICO

Con base en la información disponible y la generada en este estudio se recomiendan tomar las siguientes medidas en cuanto a la conservación y el manejo de la foca común del Pacífico en México:

- © Considerar el cambio de categoría de riesgo de la especie en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010 de “Sujeta a Protección Especial” a “Amenazada”.

Debido a que se conoce información nueva que sugiere que la especie es más vulnerable de lo que se creía. Para clasificar a las especies en las categorías de riesgo de la Norma Oficial Mexicana se emplea el método de evaluación del riesgo de extinción de las especies silvestres en México (MER), el cual tiene en cuenta cuatro criterios (Sánchez et al. 2007). En el Criterio A se evalúa la “Amplitud de la distribución del taxón en México”, que en el caso de esta especie se puede considerar restringido, ya que sólo se encuentra en nueve islas del Pacífico mexicano y en algunas playas de la costa oeste de la Península de Baja California, hasta Bahía Asunción (Gallo-Reynoso y Auriolles-Gamboa 1984; Padilla-Villavicencio 1990; Lubinsky-Jinich et al. 2017). En el Criterio B se evalúa el “Estado del hábitat con respecto al desarrollo natural del taxón”, en el caso de esta especie hay que considerar que: en México se encuentra el extremo sur de toda la distribución de la especie (Scheffer 1958; Bigg 1981); las colonias están distantes unas de otras (Lubinsky-Jinich et al. 2017); estos lugares son utilizados principalmente para descansar, parir, alimentar a las crías (Bonnes et al. 2006), y mudar (Burns 2009); se ve afectada por eventos estocásticos como El Niño, el “Blob” (Capítulo 1); por tanto se puede considerar que el estado del hábitat es intermedio o limitante. En el Criterio C se evalúa la “Vulnerabilidad biológica intrínseca del taxón”, hace referencia a los factores relacionados con la forma o la historia de vida de la especie que pueden hacer que sea vulnerable (Sánchez et al. 2007). Hay varios factores que pueden hacer que esta especie sea vulnerable, por ejemplo: sólo tienen una cría al año, alta mortalidad de las crías en el primer año de vida (Reijnders 1978), lactancia corta (3-4 semanas; Capítulo 1; Fernández-Martín et al. 2016; Ruiz-Mar 2016), alcanzan la madurez sexual a los 2-6 años (Bonner 1979), en México es poco abundante (Lubinsky-Jinich et al. 2017), y

presenta cierta estructura poblacional y baja diversidad genética (Capítulo 3). Por tanto, se podría considerar que esta especie en México tiene al menos una vulnerabilidad media. En el Criterio D se evalúa el “Impacto de la actividad humana sobre el taxón”; aquí se debe considerar por un lado los efectos en el hábitat, como son la destrucción de este en las islas y la costa, debida al incremento de actividades humanas desordenadas, por el crecimiento acelerado de las poblaciones costeras en el noroeste de México, y el efecto de las especies introducidas (CONANP 2005), que podrían transmitir enfermedades a los pinnípedos (Ziehl Quirós 2015). Por otro lado los efectos de las actividades humanas como: la pesca, que causa muerte incidental y enmarañamiento (Read et al. 2006); actividades recreativas, que perturban a las focas, interrumpiendo eventos de amamantamiento (Ruiz-Mar 2016); y la explotación de recursos naturales, como la extracción de canto rodado (piedra bola) que podría estar provocando la destrucción del hábitat y la perturbación de las colonias de la costa de la península de Baja California haciendo que abandonen las playas (Lubinsky-Jinich en elaboración). Por tanto, se podría considerar que al menos se está produciendo un impacto medio.

- © Implementar programas de monitoreo para estimar las abundancias y las tendencias de las colonias.
- © Completar el estudio de la genética poblacional colectando muestras biológicas de las colonias no estudiadas con el fin de determinar si existen más colonias aisladas.
- © Realizar estudios sobre el impacto de actividades turísticas y las relacionadas con la explotación de recursos naturales en las colonias.
- © Desarrollar programas de educación ambiental para la concienciación sobre la importancia y la vulnerabilidad de la especie.
- © Establecer medidas de protección de la especie en el Estero de Punta Banda. Debido a que se trata de colonia altamente vulnerable, por ser una colonia pequeña (99 individuos; Fernández-Martín et al. 2016), sensible a la perturbación humana (Ruiz-Mar 2016) y a cambios en las condiciones ambientales (Capítulo 1), aislada de las demás colonias, y con baja diversidad genética (Capítulo 3); su pérdida ocasionaría la desaparición de

parte de la diversidad genética de la especie y cambios en el ecosistema. Se recomienda que las medidas se tomen durante la temporada de cría principalmente, de mediados de febrero a finales de abril (Capítulo 1), y de preferencia hasta principios de julio (Fernández-Martín et al. 2016), para abarcar también la temporada de muda. Se sugiere:

- © La restricción o prohibición de las actividades, principalmente recreativas, que son fuente de disturbio.
- © Implementar un programa de vigilancia.

9. LITERATURA CITADA

Acevedo-Whitehouse K, Gulland F, Greig D, Amos W (2003) Inbreeding: Disease susceptibility in California sea lions. *Nature*, 422: 35.

Adams D, Press D, Hester M, Nevins H, Roberts D, Becker B, Jensen H, Flynn E, Koenen M, Allen S (2009) San Francisco Bay Area Network pinniped monitoring protocol. Natural Resource Report NPS/SFAN/NRR—2009/170. National Park Service, Fort Collins, Colorado.

Alamán-De Regules R (2014) Hábitos alimentarios de la foca de puerto, *Phoca vitulina richardsi*, en la Bahía de Todos Santos, Baja California, México. Master's thesis. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California, Mexico. 79 pp.

Allen BM, Angliss RP (2013) Alaska marine mammal stock assessments, 2012. NOAA Technical Memorandum NMFS-AFSC-245. NOAA. 291 pp.

Allen PJ, Amos W, Pomeroy PP, Twiss SD (1995) Microsatellite variation in grey seals (*Halichoerus grypus*) shows evidence of genetic differentiation between two British breeding colonies. *Mol. Ecol.* 4(6): 653– 662.

Amos W (1997) Marine mammal tissue sample collection and preservation for genetic analyses. En: AE Dizon, SJ Chivers y WF Perrin (eds.). *Molecular Genetics of Marine Mammals*. Special Publication 3. The Society for Marine Mammalogy. Allen Press, Inc. Lawrence, KS, USA. 347-363 pp.

Andersen LW, Lydersen C, Frie AK, Rosing-Asvid A, Hauksson E, Kovacs KM (2011) A population on the edge: genetic diversity and population structure of the world's northernmost harbour seals (*Phoca vitulina*). *Biological Journal of the Linnean Society*. 102: 420–439.

Arias-del Razo A, Heckel G, Schramm Y, Pardo MA (2016) Terrestrial habitat preferences and segregation of four pinniped species on the islands off the western coast of the Baja California Peninsula, Mexico. *Marine Mammal Science*, 32(4), 1416-1432.

Arias-Del Razo A, Schramm Y, Heckel G, Milanés-Salinas Á, García-Capitanachi B, Lubinsky-Jinich D, Franco-Ortiz M (2017) Distribution of Four Pinnipeds (*Zalophus californianus*, *Arctocephalus philippii townsendi*, *Phoca vitulina richardii*, and *Mirounga angustirostris*) on Islands off the West Coast of the Baja California Peninsula, Mexico. *Aquatic Mammals*. 43(1): 40-51.

Árnason Ú, Johnsson E (1992) The complete mitochondrial ADN sequence of the harbour seal, *Phoca vitulina*. *J. Mol. Evol.* 34: 493–505.

Aurioles-Gamboa D (2015) *Arctocephalus townsendi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T2061A45224420. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-2.RLTS.T2061A45224420.en>. Downloaded on 21 January 2018.

Aurioles-Gamboa D, Hernández-Camacho (2015) *Zalophus californianus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T41666A45230310. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T41666A45230310.en>. Downloaded on 21 January 2018.

Ávila-López MC, Hernández-Ayón JM, Camacho-Ibar VF, Bermúdez AF, Mejía-Trejo A, Pacheco-Ruiz I, Sandoval-Gil JM (2017) Air–Water CO₂ Fluxes and Net Ecosystem Production Changes in a Baja California Coastal Lagoon During the Anomalous North Pacific Warm Condition. *Estuaries and Coasts*, 40(3), 792-806.

Bigg MA (1969) Clines in the pupping season of the harbor seal, *Phoca vitulina*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 26: 449-455.

Bigg MA (1972) Control of annual reproduction in the female harbor seal, *Phoca vitulina*. (Ph.D. Zoology Thesis) University of British Columbia, Vancouver. 111 pp.

Bigg MA (1981) Harbour seal: *Phoca vitulina* and *P. largha*. In: Ridgway SH, Harrison, RJ (eds.), *Handbook of Marine Mammals*. Vol. 2. Seals. Academic Press, London, pp. 1–27.

Bohorquez AS (2001) Pupping phenology and haul out patterns of Harbor Seals (*Phoca vitulina richardii*) in San Francisco, California. (MS Thesis). San Francisco State University. San Francisco. 75 pp.

Bond NA, Cronin MF, Freeland H, Mantua N (2015) Causes and impacts of the 2014 warm anomaly in the NE Pacific. *Geophys Res Lett.* 42: 3414–3420.

Boness D (1991) Determinants of mating systems in the Otariidae (Pinnipedia). In: D. Renouf (ed.). *Behaviour of Pinnipeds.* Cambridge University Press. 1-44p.

Bonnes DJ, Bowen WD, Buhleier BM, Marshall GJ (2006) Mating tactics and mating system of an aquatic mating pinniped: The harbor seal, *Phoca vitulina*. *Behaviour Ecology Sociobiology.* 61: 119-130.

Bonner WN (1979) Harbour (Common) Seal. In: *Mammals in the seas. Vol. II: pinniped species summaries and report on sirenians.* FAO Fisheries Series. No. 5: 58-62.

Bossart GD (2011) Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Vet Pathol* 48:676–690.

Bossart GD, Dierauf LA (1990) Marine mammal clinical laboratory medicine. In *Handbook of marine mammal medicine: Health, disease, and rehabilitation*, L. A. Dierauf (ed.). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 1-52.

Bossart GD, Reidarson T, Dierauf LA, Duffield D (2001) Clinical Pathology. In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease, and Rehabilitation*, Dierauf LA, Gulland FMD, editors. Second Edition. USA, pp. 383-436.

Boveng PL, Bengtson JL, Withrow DE, Cesarone JC, Simpkins, MA, Frost KJ, Burns JJ (2003) The abundance of harbor seals in Gulf of Alaska. *Marine Mammal Science*, 19(1), 111-127.

Bowen WD, Ellis SL, Iverson SJ, Boness DJ (2001) Maternal effects on offspring growth rate and weaning mass in harbour seals. *Canadian Journal of Zoology*, 79(6): 1088-1101.

Bowen WD, Ellis SL, Iverson SJ, Boness DJ (2003) Maternal and newborn life-history traits during periods of contrasting population trends: implications for explaining the decline of harbour seals (*Phoca vitulina*), on Sable Island. *Journal of Zoology.* 261(2): 155-163.

Bowen WD, Oitedal OT, Boness DJ, Iverson SJ (1994) The effect of maternal age and other factors on birth mass in the harbour seal. *Can J Zool* 72: 8-14.

Boyd IL (1991) Environmental and physiological factors controlling the reproductive cycles of pinnipeds. *Canadian Journal of Zoology*. 69(5): 1135-1148.

Brassea-Pérez E (2016) Análisis metagenómico de la dieta de la foca de puerto (*Phoca vitulina richardii*, Gray 1864) en México Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Ensenada, Mexico. 127p.

Burg T, Trites A, Smith M (1999) Mitochondrial and microsatellite ADN analyses of harbour seal population structure in the northeast Pacific Ocean. *Canadian Journal of Zoology*. 77: 930-943.

Burns JJ (2009) Harbor seal and spotted seal *Phoca vitulina* and *P. largha*. In: Perrin, W.F., Würsig, B. & Thewissen, J.G.M. (eds.). *Encyclopedia of marine mammals*. Segunda edición, Academic Press, Canada.

Campbell RA, Gales NJ, Lento GM, Baker CS (2007) Islands in the sea: extreme female natal site fidelity in the Australian sea lion, *Neophoca cinerea*. *Biol Lett*, 4(1):139-42.

Carretta JV, Oleson E, Weller DW, Lang, AR, Forney KA, Baker J, Hanson B, Martien K, Muto MM, Orr AJ, Huber HR, Lowry MS, Barlow J, Lynch D, Carswell L, Brownell RL, Mattila DK (2014) U.S. Pacific marine mammal stock assessments, 2013. NOAA Technical Memorandum NMFS-SWFSC-532. NOAA. 384 pp.

Coltman DW, Bowen WD, Wright JM (1996) PCR primers for harbour seal (*Phoca vitulina concolour*) microsatellites amplify polymorphic loci in other pinniped species. *Mol. Ecol*. 5(1): 161–163.

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (2005) Estudio Previo Justificativo para el establecimiento de la Reserva de la Biosfera Islas del Pacífico de California. México, D.F., pp. 169 más 3 anexos.

Committee on Taxonomy (2017) List of marine mammal species and subspecies. Society for Marine Mammalogy, www.marinemammalscience.org, consulted on [11 de noviembre de 2017].

Cordes LS, Thompson PM (2013) Variation in breeding phenology provides insights into drivers of long-term population change in harbor seals. *Proc R Soc B*. 280:20130847.

Cronin MA (1993) In My Experience: Mitochondrial ADN in Wildlife Taxonomy and Conservation Biology: Cautionary Notes. *Wildlife Society Bulletin*. 21(3): 339-348.

Cury PM, Shin YJ, Planque B, Durant JM, Fromentin JM, Kramer-Schadt S, Grimm V (2008) Ecosystem oceanography for global change in fisheries. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(6), 338-346.

De Swart RL, Ross PS, Vedder LJ, Boink FBTJ, Reijnders PJH, Mulder PGH, Osterhaus ADME (1995) Haematology and clinical chemistry values for harbour seals (*Phoca vitulina*) fed environmentally contaminated herring remain within normal ranges. *Can J Zool* 73(11): 2035-2043.

Deem SL, Karesh WB, Weisman W, Uhart MM (2003) La salud de la vida silvestre en la conservación: con referencia a América Latina. En: R Polanco-Ochoa (ed.). *Manejo de Fauna Silvestre en Amazonía y Latinoamérica: selección de trabajos V Congreso Internacional*. Bogotá: CITES, Fundación Natura. Colombia. 198-204 pp.

DFO (2010) Population Assessment Pacific Harbour Seal (*Phoca vitulina richardsi*). DFO Canadian Science Advisory Secretariat Science Advisory Report 2009/011. 10 pp.

Dierauf LA, Dougherty SA, Lowenstine LJ (1986) Survival versus non survival determinants for neonatal harbor seals. *Javma J Am Vet Med A* 189: 1024–1028.

Dishman DL (2011) Genetic Substructure of Pacific Harbor Seal (*Phoca vitulina richardsi*) Populations Along the Coasts of Oregon and Washington. *Dissertations and Theses*. Portland State University. 312pp.

DOF (05/03/2014) ACUERDO por el que se da a conocer la lista de especies y poblaciones prioritarias para la conservación. México. 28 pp.

DOF (21/12/2015) Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental, especies nativas de México de flora y fauna silvestre, categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio y lista de especies en riesgo. México. 78 pp.

DOF (07/12/2016) DECRETO por el que se declara Área Natural Protegida, con el carácter de reserva de la biosfera, la región conocida como Islas del Pacífico de la Península de Baja California. México. 34 pp.

Durazo-Rodríguez RP (2015) Variación espacio-temporal de los hábitos alimentarios de la foca de puerto (*Phoca vitulina richardii*) en México. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Baja California, México. 108 pp.

Earl DA, VonHoldt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genet Resour*, 4(2): 359-361.

Elorriaga-Verplancken FR, Hadrys LML, Moreno-Sánchez XG, Mendoza-Salas I (2013) Inferences on the diet of the Eastern Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) at the Southern end of its distribution: stable isotopes and scats analyses. *Aquatic Mammals*, 39(4): 415.

Elorriaga-Verplancken FR, Sierra-Rodríguez GE, Rosales-Nanduca H, Acevedo-Whitehouse K, Sandoval-Sierra J (2016) Impact of the 2015 El Niño-Southern Oscillation on the Abundance and Foraging Habits of Guadalupe Fur Seals and California Sea Lions from the San Benito Archipelago, Mexico. *PLoS ONE* 11(5): e0155034.

Escorza-Treviño S, Dizon AE (2000) Phylogeography, intraspecific structure and sex-biased dispersal of Dall's porpoise, *Phocoenoides dalli*, revealed by mitochondrial and microsatellite ADN analyses. *Molecular Ecology*, 9: 1049–1060.

Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1:47-50.

Excoffier L, Smouse P (1994) Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene genealogies within a species. *Molecular variance parsimony. Genetics*. 136: 343-359.

Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among ADN haplotypes: Application to human mitochondrial ADN restriction data. *Genetics* 131:479-491.

Fadely BS (1997) Investigations of harbor seal (*Phoca vitulina*) health status and body condition in the Gulf of Alaska. Ph.D. Thesis. University of Alaska Fairbanks. Fairbanks, USA, 183pp.

Felsenstein J (2005) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.

Fernández-Martín EM, Heckel G, Schramm Y, García-Aguilar MC (2016) The timing of pupping and molting of the Pacific harbor seal, *Phoca vitulina richardii*, at Punta Banda Estuary, Baja California, Mexico. *Ciencias Marinas* 42(3): 195-208.

Forrest J, Miller-Rushing A (2010) Toward a synthetic understanding of the role of phenology in ecology and evolution. *Phil. Trans. R. Soc.* 365: 3101-3112.

Gales R, Renouf D (1994) Assessment of body condition of harp seals. *Polar Biol* 14: 381-387.

Galimberti F, Sanvenito S (2001) Modeling female haul-out in southern elephant seals (*Mirounga leonina*). *Aquatic Mammals*. 27(2): 92-104.

Gallo-Reynoso JP, Auriol-Gamboa D (1984) Distribución y estado actual de la población de foca común (*Phoca vitulina richardsi* (Gray, 1864)), en la Península de Baja California, México. *Anales del Instituto de Biología, UNAM. Serie Zoología*. 55(2): 323-332.

García-Aguilar MC (2004) Breeding biology of the northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) at the Isla San Benito del Oeste, Eastern Pacific, Mexico. *Aquat. Mamm.* 30(2): 289–295.

García-Aguilar MC, Aurióles-Gamboa D (2003) Cuidado materno en el lobo marino de California de Los Islotes, Golfo de California, México. *Ciencias marinas*, 29(4b), 573-583.

Gjertz I, Børset A (1992) Pupping in the most northerly harbor seal (*Phoca vitulina*). *Marine Mammal Science*. 8(2): 103-109.

Goodman SJ (1997) Dinucleotide repeat polymorphisms at seven anonymous microsatellite loci cloned from the European harbor seal (*Phoca vitulina vitulina*). *Anim. Genet.* 28(4): 310–311.

Goodman SJ (1998) Patterns of extensive genetic differentiation and variation among European harbour seals (*Phoca vitulina vitulina*) revealed using microsatellite ADN polymorphisms. *Molecular Biology and Evolution* 15: 104–118.

Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).

Grant WAS, Bowen BW (1998) Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation, *Journal of Heredity*, 89(5): 415–426.

Green DS, Young JK, Hernández-Camacho CJ, Gerber LR (2010) Developing a non-invasive indicator of pinniped health: Neonate behaviour and growth in California sea lions (*Zalophus californianus*). *Cienc. Mar.* 36: 311–321.

Greig DJ, Gulland FMD, Rios CA, Hall AJ (2010) Hematology and serum chemistry in stranded and wild-caught harbor seals in central California: reference intervals, predictors of survival, and parameters affecting blood variables. *J Wildlife Dis* 46(4): 1172-1184.

Hansen S, Lavigne DM (1997) Ontogeny of the thermal limits in the harbor seal (*Phoca vitulina*). *Physiological zoology*, 70(1), 85-92.

Harding KC, Fujiwara M, Axberg Y, Härkönen T (2005) Mass-dependent energetics and survival in Harbour Seal pups. *Functional Ecology*, 19(1), 129-135.

Härkönen T, Harding KC (2001) Spatial structure of harbour seal populations and the implications thereof. *Canadian Journal of Zoology*. 79(12): 2115-2127.

Hartmann DF (2015) Pacific sea surface temperature and the winter of 2014. *Geophysical Research Letters* 42.

Herreman JK, Blundell GM, McDonald DB, Ben-David M (2009) Asymmetrical male-mediated gene flow between harbor seal (*Phoca vitulina*) populations in Alaska. *Canadian Journal of Zoology*. 87: 498-507.

Hoelzel AR, LeBoeuf BJ, Reiter J, Campagna C (1999) Alpha-male paternity in elephant seals. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 46: 298–306.

Hoffman JI, Steinfartz S, Wolf JBW (2007) Ten novel dinucleotide microsatellite loci cloned from the Galápagos sea lion (*Zalophus californianus wollebaeki*) are polymorphic in other pinniped species. *Molecular Ecology Notes*, 7: 103–105.

Huber HR, Dickerson BR, Jeffries SJ, Lambourn DM (2012) Genetic analysis of Washington State harbor seals (*Phoca vitulina richardii*) using microsatellites. *Canadian Journal of Zoology*. 90: 1361-1369.

Huber HR, Jeffries SJ, Lambourn DM, Dickerson BR (2010) Population substructure of harbor seals (*Phoca vitulina richardsi*) in Washington State using mtADN. *Canadian Journal of Zoology*. 88(3): 280-288.

Hückstädt L (2015) *Mirounga angustirostris*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T13581A45227116. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-2.RLTS.T13581A45227116.en>. Downloaded on 21 January 2018.

Jemison LA, Kelly B (2001) Pupping phenology and demography of harbor seals (*Phoca vitulina richardsi*) on Tugidak Island, Alaska. *Marine Mammal Science*. 17(3): 585-600.

Jensen JL, Bohonak AJ, Kelley ST (2005) Isolation by distance, web service. *BMC Genetics*, 6:13.

Kirby RR, Beaugrand G (2009) Trophic amplification of climate warming. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 276(1676), 4095-4103.

Kobayashi Y, Kariya T, Chishima J, Fujii K, Wada K, Baba S, Ito T, Nakaoka T, Kawashima M, Saito S, Aoki N, Hayama S, Osa Y, Osada H, Niizuma A, Suzuki M, Uekane Y, Hayashi K, Kobayashi M, Ohtaishi N, Sakurai Y (2014) Population trends of the Kuril harbour seal *Phoca vitulina stejnegeri* from 1974 to 2010 in southeastern Hokkaido, Japan. *Endangered Species Research*, 24(1), 61-72.

Lamont MM, Harvey JT, Jeffries S, Brown R, Huber HH, DeLong R, Thomas WK (1996) Genetic substructure of the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*) off Washington, Oregon, and California. *Marine Mammal Science*. 12: 402-413.

Lander M, Harvey J, Gulland F (2003) Hematology and serum chemistry comparisons between free-ranging and rehabilitated harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*) pups. *J Wildlife Dis* 39(3): 600-609.

Lander ME, Fadely BS, Gelatt TS, Rea LD, Loughlin TR (2013) Serum chemistry reference ranges for Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) pups from Alaska: Stock differentiation and comparisons within a North Pacific sentinel species. *Ecohealth* 10:376–393.

Lowry L (2016) *Phoca vitulina*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T17013A45229114. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T17013A45229114.en>. Downloaded on 21 January 2018.

Loya-Salinas DH, Palacios E, González S (1992) Seasonal abundances of the harbor seal (*Phoca vitulina richardsi* Gray 1864) at Punta Banda Estuary (B.C., Mexico). *Cienc. Mar.* 18(3): 57–70.

Lubinsky-Jinich D (en elaboración) Abundancia y uso de habitat marino de la foca de puerto *Phoca vitulina richardii*, en Baja California, Mexico. (Tesis de Doctorado). Centro

de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Ensenada, Mexico.

Lubinsky-Jinich D, Schramm Y, Heckel G (2017) The Pacific harbor seal's (*Phoca vitulina richardii*) breeding colonies in Mexico: Abundance and distribution. *Aquatic Mammals*, 43(1), 73.

Luque-Flores S, Auriolles-Gamboa D (2001) Sex differences in body size and body condition of California sea lion (*Zalophus californianus*) pups in the Gulf of California. *Mar Mammal Sci* 17(1): 147–160.

Maravilla-Chávez M, Lowry M (1996) Censos de pinnípedos en islas de la costa occidental de la Península de Baja California, México (Julio/Agosto, 1992). *Ciencia Pesquera*. 13: 73-77.

Miller K, Irving L (1975) Metabolism and temperature regulation in young harbor seals *Phoca vitulina richardi*. *American Journal of Physiology*. 229(2): 506-511.

Muelbert MMC, Bowen WD (1993) Duration of lactation and postweaning changes in mass and body composition of harbour seal, *Phoca vitulina*, pups. *Canadian Journal of Zoology*, 71(7): 1405-1414.

Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. USA. 512 pp.

NOAA (2017) Climate Prediction Center: Historical El Nino/ La Nina episodes (1950-present).

http://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/analysis_monitoring/ensostuff/ensoyears.shtml.

Accessed 20 June 2017.

NOAA NMFS SWFSC ERD (2017) Chlorophyll-a, Aqua MODIS, Npp, 0.025 degrees, Pacific Ocean, 2006-present, EXPERIMENTAL (Monthly Composite). <http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/erddap/griddap/erdMBchlamday.graph>. Accessed 20 June 2017.

NOAA NMFS SWFSC ERD (2017) SST, Aqua MODIS, NPP, 0.0125°, West US, Day time (11 microns), 2002-present (Monthly Composite). <http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/erddap/griddap/erdMWsstmdmday.graph>. Accessed 20 June 2017.

O’Corry-Crowe GM, Martien KK, Taylor BL (2003) The analysis of population genetic structure in Alaskan harbor seals, *Phoca vitulina*, as a framework for the identification of management stocks. National Marine Fisheries Service, Southwest Fisheries Science Center, Administrative Report No. LJ-03-08.

O’Corry-Crowe G, Westlake Storey RL, DeAngelis ML, Campbell DG, Martien KK, Taylor BL (2001) Molecular Genetic Investigations of Harbor Seal Stock Structure in Alaska. Annual Report: Harbour seal investigations in Alaska. NOAA GRANT NA87FX0300. 304-311 pp.

Padilla-Villavicencio AM (1990) Aspectos biológicos de la foca común (*Phoca vitulina richardsi*, Gray (1864)) en la costa occidental de Baja California (Carnivora: Phocidae). BSc thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 88 pp.

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

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.

Proesteros (2005) Ficha RAMSAR 2006 [en línea]. Ensenada. Disponible en: http://proesteros.cicese.mx/archivos/ficha_ramsar_punta_banda.pdf [Accesado el 7 de junio de 2014].

Read AJ, Drinker P, Northridge S (2006) Bycatch of marine mammals in US and global fisheries. *Conservation biology*, 20(1): 163-169.

Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology*, 17: 230–237.

Reijnders PJH (1978) Recruitment in the harbor seal (*Phoca vitulina*) population in the Dutch Wadden Sea. *Netherlands Journal of Sea Research* 12: 164-169.

Reijnders PJH, Brasseur SMJM, Meesters HWG (2010) Earlier pupping in harbour seals, *Phoca vitulina*. *Biology Letters*. 6(6): 854-857.

Riedmann M (1990) *The Pinnipeds: Seals, Sea Lions, and Walruses*. University of California Press. EE.UU. 439 pp.

Robinson CJ (2016) Evolution of the 2014–2015 sea surface temperature warming in the central west coast of Baja California, Mexico, recorded by remote sensing. *Geophysical Research Letters*, 43(13), 7066-7071.

Rothery P, McCann ST (1987) Estimating pup production of elephant seals at South Georgia. *Symp. Zool. Soc. London*. 58: 211–223.

Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resources*, 8: 103-106.

Ruiz-Mar MG (2016) Determinación del periodo de lactancia y cuidado materno en la foca de puerto *Phoca vitulina richardii* y su relación con el disturbio humano en el estero de Punta Banda, Baja California, México. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Ensenada, Mexico. 68 pp.

Samaniego-Herrera A, Peralta-García A, Aguirre-Muñoz A (2007) *Vertebrados de las islas del Pacífico de Baja California. Guía de campo*. Grupo de Ecología y Conservación de Islas, A.C. Ensenada, Baja California, México. 178 pp.

Sánchez O, Medellín R, Aldama A, Goettsch B, Soberón J, Tambutti M (2007) *Método de Evaluación del Riesgo de Extinción de las Especies Silvestres en México (MER)*. INE-SEMARNAT y CONABIO. México. 173p.

Sandell M (1990) The evolution of seasonal delayed implantation. *The Quarterly Review of Biology*, 65(1), 23-42.

Schaeff CM, Boness DJ, Bowen WD (1999) Female distribution, genetic relatedness, and fostering behaviour in harbour seals, *Phoca vitulina*. *Animal Behaviour*. 57(2): 427-434.

Scheffer VB (1958) Seals, sea lions, and walruses: a review of the Pinnipedia. University Press, Stanford.

Schmidt D, Pool J (2002) The effect of population history on the distribution of the Tajima's D statistic. *J Endocrinol*, 33(2), 211-22.

Schramm Y, Mesnick SL, De la Rosa J, Palacios DM, Lowry MS, Aurióles-Gamboa D, Snell HM, Escorza-Trevino S (2009) Phylogeography of California and Galápagos sea lions and population structure within the California sea lion. *Marine Biology*, 156(7): 1375-1387.

Schweigert FJ (1993) Effects of fasting and lactation on blood chemistry and urine composition in the grey seal (*Halichoerus grypus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 105A:353–357.

Seal Conservancy (2014) Pup News 21014. <http://sealconservancy.org/pup-news-2014/>. Accessed 10 June 2014.

Stanley HF, Casey S, Carnahan JM, Goodman S, Harwood J, Wayne RK (1996) Worldwide patterns of mitochondrial ADN differentiation in the harbour seal (*Phoca vitulina*). *Molecular Biology and Evolution*. 13: 368– 382.

Stewart BS, Yochem P (1994) Ecology of Harbor Seals in the Southern California Bight. *The Fourth California Islands Symposium: Update on the Status of Resources*. 123-134 pp.

Tapia-Harris C, Heckel G, Schramm Y, Fernández-Martín EM (2017) Molting phenology of the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) on two islands off the Baja California Peninsula, Mexico. *Marine Mammal Science*, 33(3): 817-829.

Temte JL (1986) Photoperiod and the timing of pupping in the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*) with notes on reproduction in northern fur seals and Dall porpoises. (Tesis de Maestría). Oregon State University. Oregon. 294 pp.

Temte JL (1991) Precise birth timing in captive harbor seals (*Phoca vitulina*) and California sea lions (*Zalophus californianus*). *Marine Mammal Science*. 7(2): 145-156.

Temte JL (1994) Photoperiod control of birth timing in the harbour seal (*Phoca vitulina*). *Journal of Zoology*. 233(3): 369-384.

Temte JL, Bigg MA, Wiig O (1991) Clines revisited: The timing of pupping in the harbour seal (*Phoca vitulina*). *Journal of Zoology*. 224(4): 617-632.

Thompson PM, Tollit DJ, Corpe, HM, Reid RJ, Ross HM (1997) Changes in haematological parameters in relation to prey switching in a wild population of harbour seals. *Funct Ecol* 11(6): 743-750.

Torres A, Esquivel C, Ceballos G (1995) Diversidad y conservación de los mamíferos marinos de México. *Revista Mexicana de Mastozoología*. 1: 22-43.

Trites AW (1992) Reproductive synchrony and the estimation of mean date of birth from daily counts of northern fur seal pups. *Marine Mammal Science*, 8(1), 44-56.

Trumble SJ, Castellini MA (2001) Blood Chemistry and Morphometric Comparisons between Harbor Seal Pups from Tugidak Island and within Prince William Sound, Alaska: Using Cluster Analysis to Assess Health Status. Annual Report: Harbour seal investigations in Alaska. NOAA GRANT NA87FX0300. 324-344 pp.

Trumble SJ, Castellini MA (2002) Blood chemistry, hematology, and morphology of wild harbor seal pups in Alaska. *J Wildl Manag* 66:1197–1207.

Trumble SJ, Castellini MA, Mau TL, Castellini JM (2006) Dietary and seasonal influences on blood chemistry and hematology in captive harbor seals. *Mar Mammal Sci* 22(1): 104-123.

Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DP, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Resources*, 4(3): 535-538.

Westlake RL, O’Corry-Crowe GM (2002) Macrogeographic structure and patterns of genetic diversity in harbor seals (*Phoca vitulina*) from Alaska to Japan. *J. Mammal.* 83(4): 1111–1126.

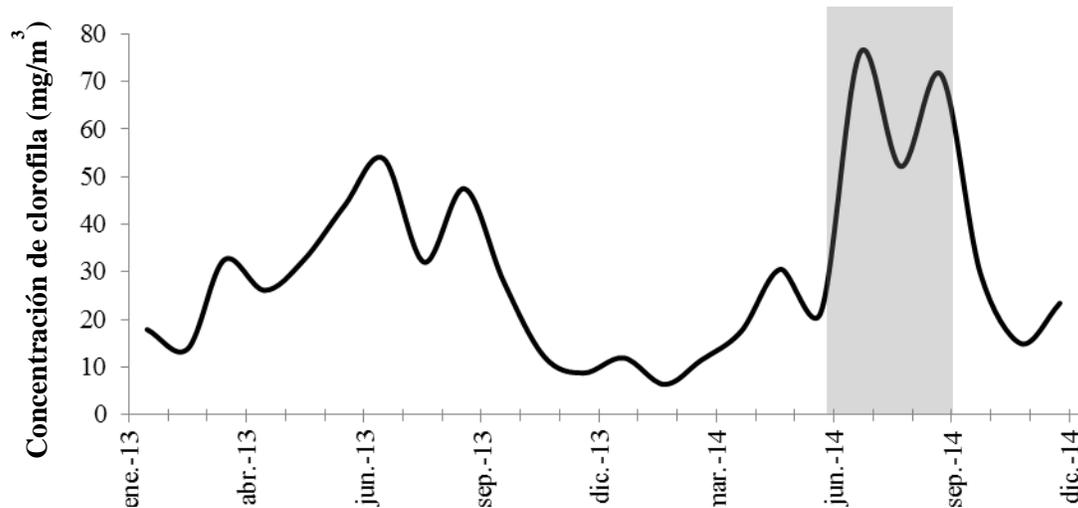
Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenetics.* 15: 323-354.

Ziehl-Quirós EC (2015) Prevalencia de cuatro enfermedades infecciosas en lobo fino en Isla Guadalupe, México. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Ensenada, Mexico. 77 pp.

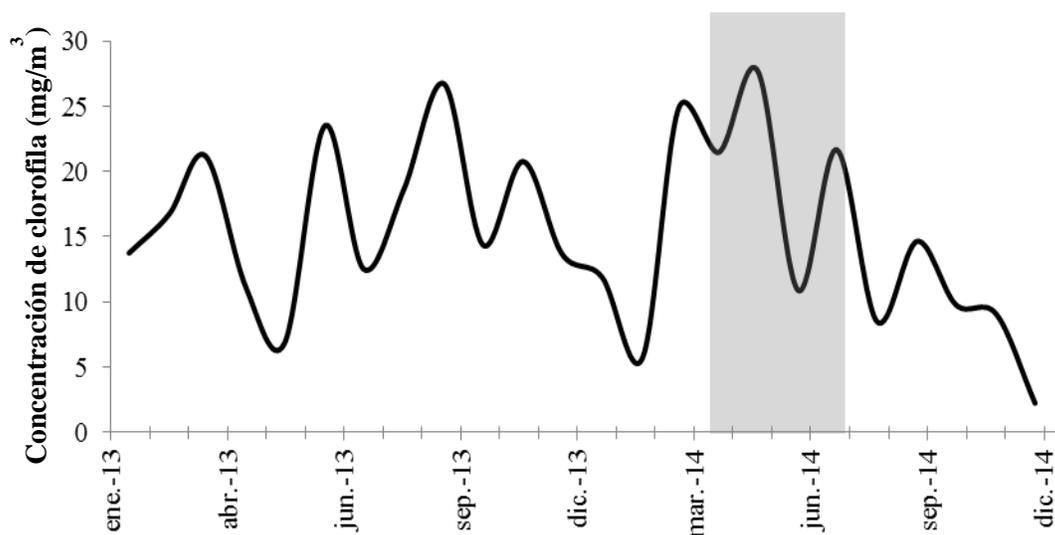
ANEXO I: *Concentración de clorofila y temporada de cría*

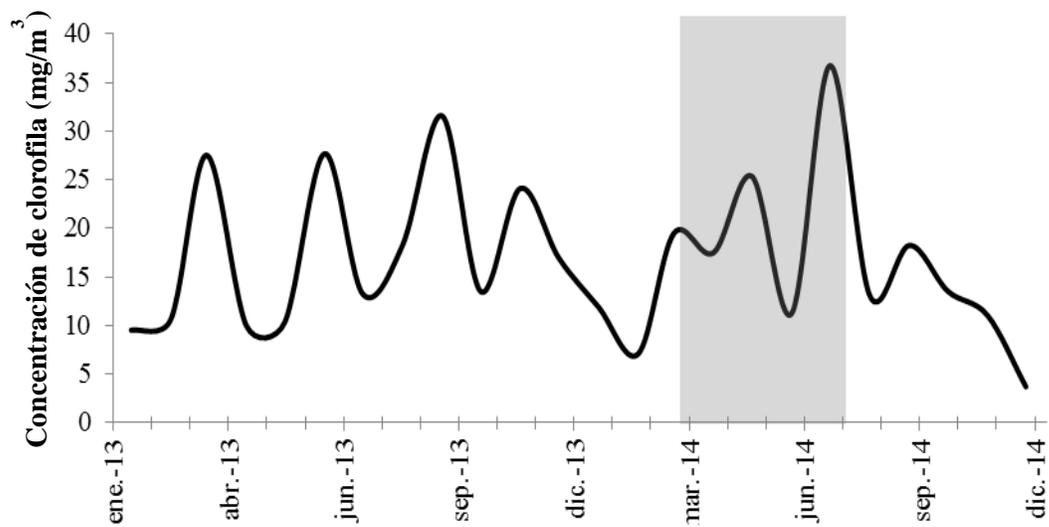
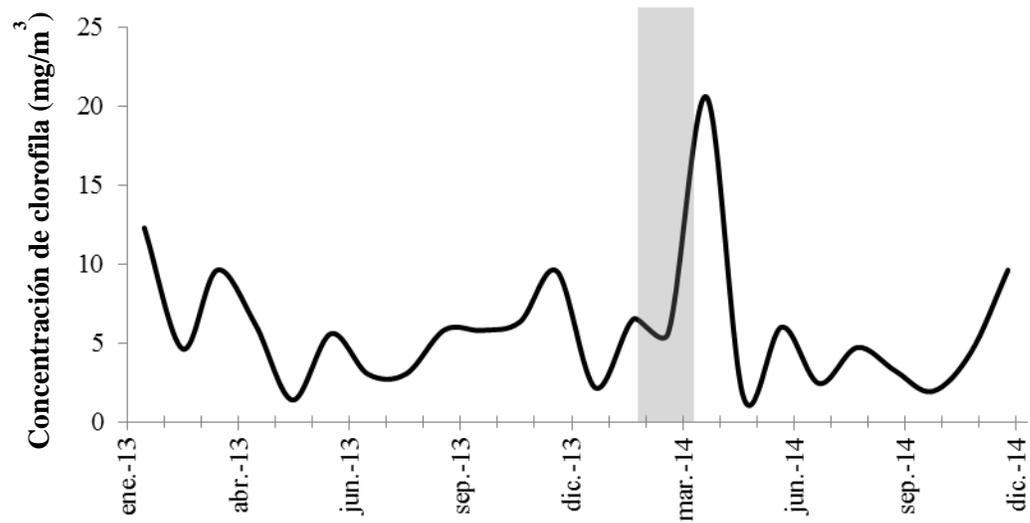
En las gráficas se muestran las concentraciones promedio mensuales de clorofila, desde enero de 2013 a diciembre de 2014, para cada colonia, y sombreado se muestra la temporada de cría de 2014. Para la colonia del Estero de Punta Banda se muestran los valores de abril de 2010 a noviembre de 2015, y las temporadas de cría de 2011 a 2015.

Bellingham

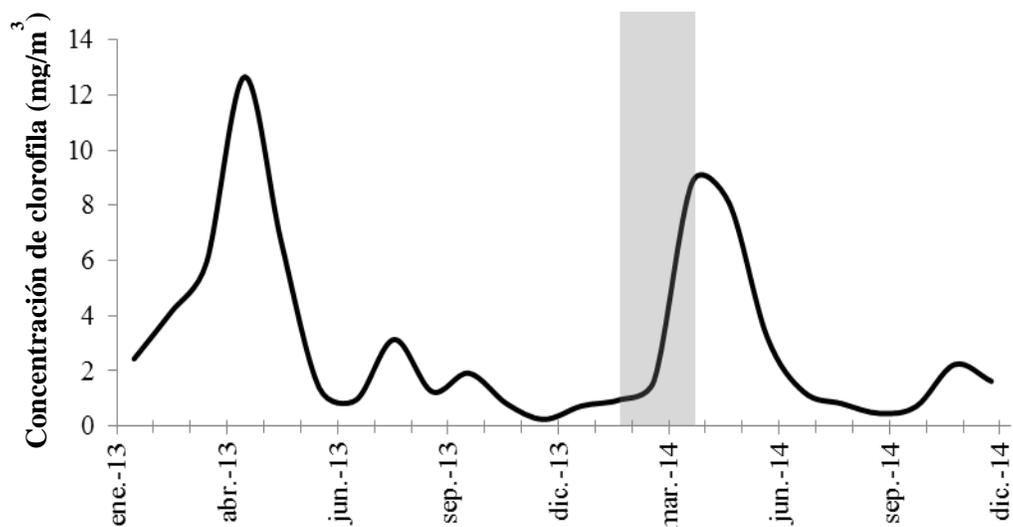


Drakes Estero

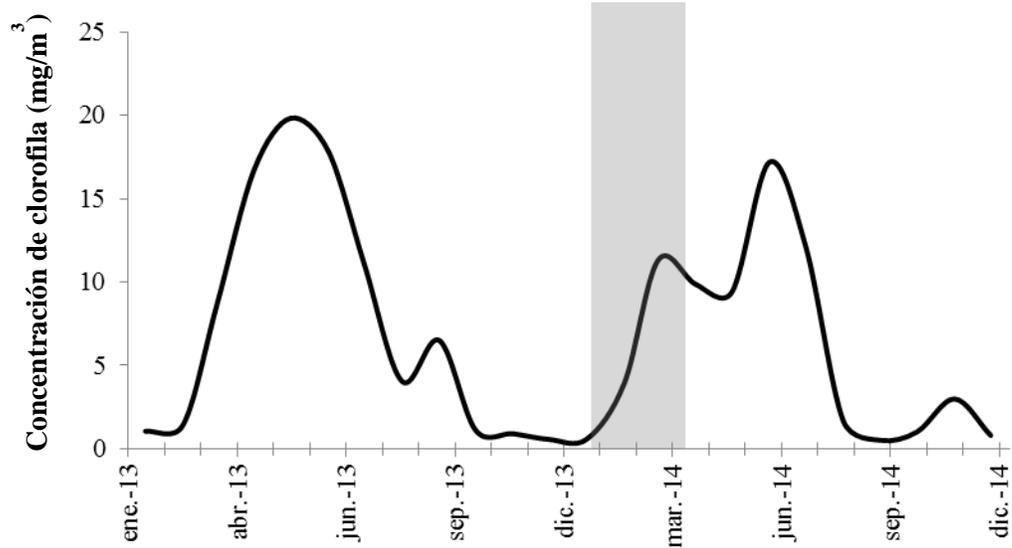


Double Point**La Jolla**

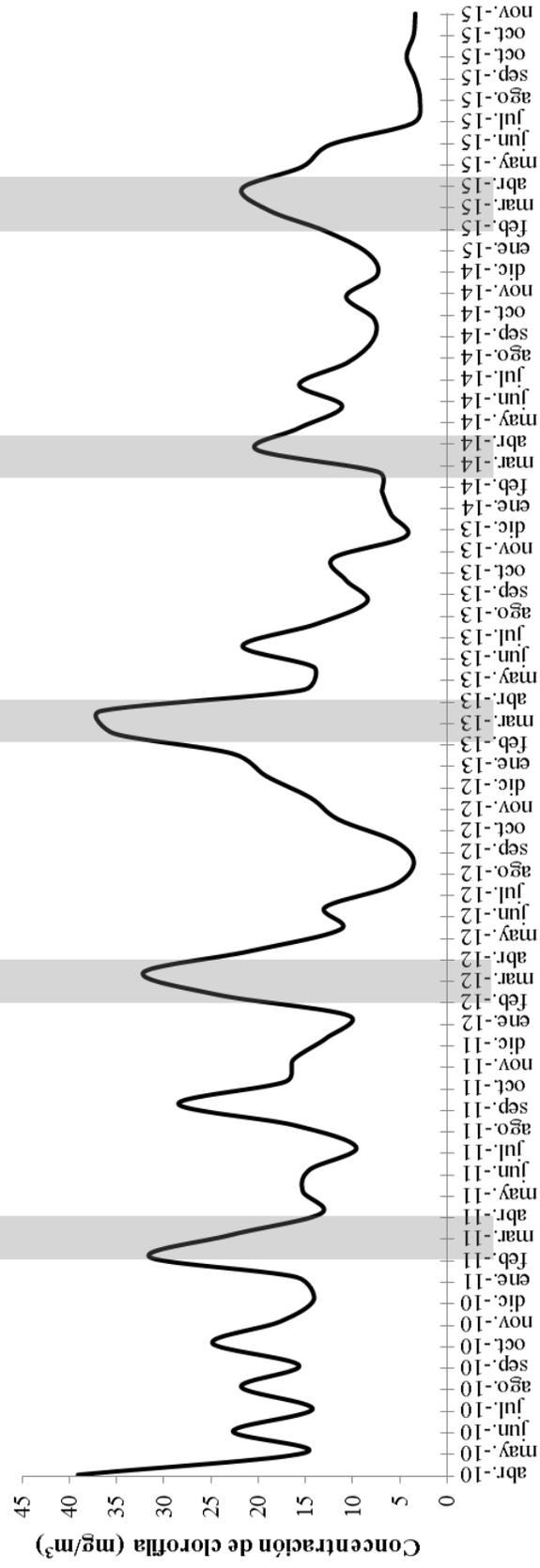
Islas Todos Santos



Isla San Roque



Estero de Punta Banda



ANEXO II: *Interferencias de los artefactos en las muestras de sangre*

Las muestras de sangre presentaron un alto porcentaje de incidencia de artefactos, en distintos grados:

- La hemólisis se presentó en el 24% de las muestras. Este artefacto se puede producir por el método de extracción y/o por el manejo y almacenaje de las muestras, sobre todo en las obtenidas en campo (Morgan et al 1998). Se evaluó en qué grado se presentó en cada muestra de manera visual y este se utilizó para detectar la posible interferencia en la medición de los parámetros sanguíneos.
- La ictericia se presentó en el 55% de las muestras. Este artefacto no se puede evitar ya que se produce de forma natural en neonatos, es una ictericia fisiológica, ya que es resultado de la inmadurez funcional del hígado (Dierauf et al. 1986). Aumenta en crías de tres días y va disminuyendo hasta los 10 días donde alcanza valores normales (Dierauf et al. 1986). Se evaluó el grado de ictericia de manera visual, y para detectar la posible interferencia en la medición de los parámetros sanguíneos se utilizaron los valores de bilirrubina total (BT; $\mu\text{mol/L}$).
- La lipemia se presentó en el 71% de las muestras. Este artefacto se debe frecuentemente a una alimentación reciente, lo cual en animales en libertad es imposible de controlar; también se han encontrado especies susceptibles a desarrollar lipemia durante la lactancia. Se evaluó el grado de lipemia de manera visual, y para detectar la posible interferencia en la medición de los parámetros sanguíneos se utilizaron los valores de triglicéridos (mmol/L).

Debido al alto porcentaje de ocurrencia es importante detectar la posible interferencia en la medición de los parámetros sanguíneos, cada parámetro puede verse afectado por distintos grados de un artefacto, y depende de la metodología empleada para medirlo. Por lo que se revisaron los protocolos de cada parámetro de *Pointe Scientific*, específicos para el analizador y los reactivos utilizados, y con los niveles máximos sin efecto de los artefactos, se convirtieron las unidades, y se creó la tabla (Niveles máximos de los artefactos sin interferencia en la medición de los parámetros sanguíneos) para compararla con los valores de los parámetros.

En los casos en los que hubo dudas de la interferencia, estaban en el límite o lo sobrepasaban, se realizaron pruebas de paramétricas o no paramétricas (si no se cumplía con la normalidad y/o la homogeneidad de varianzas). De esta forma para la glucosa mediante la prueba de Kruskal-Wallis no se encontraron diferencias significativas entre los grados de lipemia ($p=0.616$). También se comprobó mediante una prueba t que no existían diferencias significativas en las concentraciones de glucosa cuando presentaban valores de triglicéridos mayores o menores a 3.42 mmol/L ($p=0.626$). Las globulinas se calculan a partir de la diferencia entre las proteínas totales y la albumina, en la determinación de ésta no interfiere la lipemia. Sin embargo, en la determinación de las proteínas totales si se ven afectadas por la lipemia, pudiendo causar valores elevados, en este trabajo se encontraron diferencias significativas entre los grados de lipemia ($p=0.001$), mediante la prueba de Kruskal-Wallis. En la globulina también se encontraron diferencias significativas entre los grados de lipemia ($p=0.001$), mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Para los triglicéridos y el hierro no se encontraron diferencias significativas entre los distintos grados de hemólisis ($p=0.075$ Kruskal-Wallis y $p=0.502$ ANOVA, respectivamente).

Por tanto, para el análisis de los datos se descartaron:

- La muestra 2ITS19 debido al alto grado de hemólisis (+++) y por presentar un coágulo.
- Las muestras que tenían un grado 3 de lipemia, para las PT y globulinas.

Además, en el caso de la bilirrubina directa e indirecta al determinar la concentración se obtuvieron valores negativos en algunos individuos, por lo que en estos casos se reportaron como “no determinado” por interferencia analítica con la lipemia.

**Niveles máximos de los artefactos sin interferencia en la medición de los parámetros
sanguíneos**

	HEMOLISIS	LIPEMIA (triglicéridos mmol/L)	ICTERICIA (BT μ mol/L)
Glucosa	+++	3,42	342
Urea	+	NI	342
Creatinina	++	11,4	342
Colesterol	++	NI	NI
Triglicéridos	lig - +	NI	205,2
BT	++	11,4	NI
BD	lig - +	5,7	NI
BI	lig - +	5,7	NI
ALT	++	NI	513
AST	+ - +++	NI	307,8
FA	++	11,4	342
Amilasa	++	11,4	513
CK	+	22,8	684
PT	++	CL/NI	NI
Albumina	+	NI	NI
Globulinas	+	CL	NI
Relación A/G	+	CL	NI
Calcio	++	11,4	342
Fósforo	++	NI	NI
Potasio	NI	NI	NI
Sodio	NI	NI	NI
Cloro	NI	NI	NI
Bicarbonato	++	11,4	342
Anión gap	++	11,4	342
DIF	NI	NI	NI
Osmolalidad	NI	NI	NI
Hierro	Lig	NI	NI
Hemoglobina	NI	22,8	855

ANEXO III: Información complementaria de los resultados del Capítulo 2

a) Efecto del sexo y de la edad en variables sanguíneas.

Se tomaron medidas morfométricas y muestras de sangre de crías de foca, en Islas Todos Santos y el Estero de Punta Banda, con el fin de determinar si existen diferencias en el estado de salud y nutricional entre las dos colonias de focas. Debido al pequeño tamaño de muestra por celda no es posible realizar un MANOVA con factores “Lugar”, “Edad” y “Sexo”; ni con los factores “Lugar” y “Edad” porque sólo se podrían analizar a la vez como máximo 2 variables. Por lo que para poder realizar un MANOVA con un factor “Lugar” y con varios parámetros sanguíneos como variables, se requiere utilizar variables que no se vean afectadas por los factores “Sexo” y “Edad”.

Número de individuos por celda Edad-Sexo-Lugar

		2-4		7-10		>10	
		H	M	H	M	H	M
LUGAR	ITS	3	1	14	9	0	3
	EPB	0	2	3	1	3	1

Para ver si alguna variable se ve afectada por el sexo se analizaron los datos de Islas Todos Santos de edad 2, ya que es donde se tiene el mayor tamaño de muestra (23), y para evitar el posible efecto del lugar y la edad. Para cada variable se probaron los supuestos de normalidad (N) y de homogeneidad de varianza (HV). En caso de cumplirse con los supuestos se realizó un ANOVA de una vía con el “Sexo” como factor, en el caso de no cumplirse alguno de los supuestos se realizó una prueba de Kruskal-Wallis. Para ambas pruebas se consideró un nivel de significación de 0.1. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Variables	N	HV	ANOVA	Kruskal-Wallis
LR (cm)	S	S	0.0119	
LC (cm)	S	S	0.0055	
PA (cm)	S	S	0.3379	
PM (cm)	S	S	0.1523	
PC (cm)	S	S	0.6940	
GCG A (mm)	S	S	0.3191	

GCG M (mm)	S	S	0.9244
Masa (kg)	S	S	0.0916
IC	S	S	0.4223
LMD-index	S	S	0.9898
% Grasa	S	S	0.7855
Mo/Me	S	S	0.7269
Glucosa	N	S	0.0322
Urea (BUN)	S	N	0.5286
Creatinina	N	N	0.0724
Colesterol	S	N	0.4884
Triglicéridos	N	S	0.5702
B.T	N	N	0.4884
B.D	N	N	0.9093
B.I*	N	N	0.4250
ALT	N	S	0.7052
AST	S	N	0.6139
FA	S	S	0.1069
Amilasa	S	N	0.2561
CK	N	S	0.6592
PT	S	S	0.0754
Albumina	S	S	0.5416
Globulinas*	S	S	0.3593
Relación A/G	S	S	0.5981
Calcio	S	S	0.9095
Fósforo	S	S	0.9292
Potasio	S	S	0.9698
Sodio	S	S	0.6849
Cloro	S	S	0.7671
Bicarbonato	S	S	0.7922
Anión gap	S	S	0.7540
DIF	N	S	0.8449
Osmolalidad	S	S	0.6873
Hierro	S	S	0.9022
Hemoglobina	S	S	0.9519
Hematocrito	S	S	0.8636
Eritrocitos	S	S	0.4709
VGM	S	S	0.1075
CGMH	S	S	0.8157
Plaquetas	S	N	0.7528
Solidos t.	S	S	0.9293
Leucocitos	N	S	0.1964
Neutrófilos	N	S	0.1753
Bandas	N	S	0.6678
Linfocitos	S	S	0.2136
Monocitos	S	S	0.3006
Eosinófilos	N	S	0.3642

Se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras en las variables: LR (longitud estándar), LC (longitud curva), masa, glucosa, creatinina, y PT (proteínas totales). Por lo que estas variables no se consideraron para ver el efecto del lugar ni de la edad.

Posteriormente, para ver las variables se ven afectadas por la edad, se analizaron los datos de Islas Todos Santos y del Estero de Punta Banda, por separado, para evitar el posible efecto del lugar. Para cada variable y lugar se probaron los supuestos de normalidad (N) y de homogeneidad de varianza (H). En caso de cumplirse con los supuestos se realizó un ANOVA de una vía con la “Edad” como factor, en caso contrario se realizó una prueba de Kruskal-Wallis. Para ambas pruebas se consideró un nivel de significación de 0.1. Se obtuvieron los siguientes resultados:

ITS					EPB				
Variables	N	H V	ANOVA	Kruskal- Wallis	Variables	N	H V	ANOVA	Kruskal- Wallis
PA (cm)	S	S	0.5056		PA (cm)	S	S	0.1181	
PM (cm)	S	S	0.4389		PM (cm)	S	S	0.1961	
PC (cm)	S	S	0.8961		PC (cm)	S	S	0.1868	
GCGA (mm)	N	S		0.6019	GCGA (mm)	S	S	0.0457	
GCGM (mm)	N	S		0.8191	GCGM (mm)	S	S	0.0269	
IC	S	N		0.9183	IC	S	S	0.2014	
LMD-index	N	S		0.8238	LMD-index	S	S	0.0304	
% Grasa	N	S		0.5553	% Grasa	S	S	0.0469	
Mo/Me	N	S		0.7032	Mo/Me	S	S	0.2496	
Urea (BUN)	N	S		0.5897	Urea (BUN)	S	S	0.6799	
Colesterol	S	S	0.0006		Colesterol	S	S	0.0139	
Triglicéridos	N	N		0.1522	Triglicéridos	S	S	0.9136	
B.T	N	S		0.0539	B.T	N	S		0.1098
ALT	N	N		0.3149	ALT	S	S	0.0032	
AST	N	S		0.0802	AST	N	S		0.1012
FA	S	S	0.2310		FA	S	S	0.4770	
Amilasa	S	N		0.0488	Amilasa	S	S	0.0994	
CK	N	S		0.2346	CK	N	S		0.6920
Albumina	S	S	0.0311		Albumina	S	S	0.0739	
Globulinas*	S	N		0.0624	Globulinas*	S	S	0.1325	
Relación A/G	S	S	0.0065		Relación A/G	S	S	0.1872	
Calcio	S	S	0.1435		Calcio	S	S	0.6260	
Fósforo	N	S		0.6760	Fósforo	S	S	0.7271	
Potasio	S	S	0.4632		Potasio	S	S	0.3864	
Sodio	N	S		0.6073	Sodio	N	S		0.8555
Cloro	S	S	0.0804		Cloro	S	S	0.0259	
Bicarbonato	S	S	0.8889		Bicarbonato	S	S	0.5339	
Anión gap	S	S	0.4826		Anión gap	S	S	0.4590	
DIF	N	S		0.0613	DIF	S	S	0.3358	
Osmolalidad	S	S	0.6985		Osmolalidad	N	S		0.8503
Hierro	N	S		0.5287	Hierro	N	S		0.1012
Hemoglobina	N	S		0.6173	Hemoglobina	S	S	0.5767	
Hematocrito	S	S	0.4011		Hematocrito	S	S	0.1811	
Eritrocitos	S	S	0.8670		Eritrocitos	S	S	0.2861	
VGM	S	S	0.5600		VGM	S	S	0.3731	
CGMH	N	S		0.3628	CGMH	S	S	0.0095	
Plaquetas	S	S	0.5209		Plaquetas	S	S	0.8182	
Solidos t.	N	S		0.3737	Solidos t.	S	S	0.8269	
Leucocitos	N	S		0.1722	Leucocitos	N	S		0.6464
Neutrófilos	N	S		0.3654	Neutrófilos	N	S		0.7812
Bandas	N	N		0.5248	Bandas	N	S		0.3737
Linfocitos	S	S	0.5120		Linfocitos	N	S		0.1430
Monocitos	N	N		0.6517	Monocitos	S	S	0.5144	
Eosinófilos	N	S		0.2720	Eosinófilos	S	S	0.3463	

Se encontraron diferencias significativas entre las distintas clases de edad en Islas Todos Santos y/o el Estero de Punta Banda en las variables: GCGA (grosor capa de grasa axilar), GCGM (grosor capa de grasa máximo), los índices de condición relacionados con el porcentaje de grasa (LMD-index y %Grasa), colesterol, BT, ALT, AST, amilasa, albumina, globulinas, relación A/G, cloro, DIF y CGMH. Por tanto, estas variables no se consideraron para ver si hay diferencias entre las colonias.

b) Información que proporcionan los parámetro sanguíneos que no se vieron afectados por el sexo o la edad:

Parámetro sanguíneo	Renal/Urinario	Endocrino	Pulmonar	Musculo-Esquelético	Gastro-Intestinal	Cardio-Vascular	Hepatobiliar	Hematológico	Estado Nutricional	Infección
Sodio										
Potasio										
Bicarbonato										
Urea (BUN)										
Osmolalidad										
Calcio										
Fósforo										
Anión gap										
Triglicéridos										
Fosfatasa Alcalina (FA)										
CK										
Hierro sérico										
Hematocrito										
Hemoglobina										
VCM										
Eritrocitos										
Plaquetas										
Leucocitos										
Neutrófilos										
Linfocitos										
Monocitos										
Eosinófilos										

c) Resultados de la prueba de Tukey después del MANOVA.

Prueba Tukey	p entre ITS-EPB
LnBUN	0.544745
LnP	0.018931
Potasio	0.045605
Sodio	0.000691
LnFe	0.057234
Hb ^{4.95}	0.294411
Leu ^{-0.5}	0.043421
LnIC	0.621177

ANEXO IV: Información para la discusión del Capítulo 2

a) Comparación de las medidas morfométricas e índices de condición de las crías de *Phoca vitulina richardii* capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015, y los valores publicados para crías de Alaska.

	ITS			EPB			Agrupados		Trumble y Castellini 2002	
	n	Media±SD	SE	n	Media±SD	SE	n	Media±SD	n	Media±SD
LR (cm)	30	76.23±7.58	1.38	9	81.94±4.93	1.64	39	77.55±7.41	103	93.6±5.5
LC (cm)	30	80.78±6.5	1.19	9	89.39±6.08	2.03	39	82.77±7.32		NR
PA (cm)	30	54.6±4.96	0.91	9	61.83±7.99	2.66	39	56.27±6.46	103	82.4±7.7
PM (cm)	30	53.12±6.3	1.15	9	62.44±6.97	2.32	39	55.27±7.51	148	83.9±5.5
PC (cm)	30	41.38±4.88	0.89	9	46.61±7.11	2.37	39	42.59±5.81	103	68.3±6.7
GCGA (mm)	30	9.5±4.93	0.90	9	21.61±9.85	3.28	39	12.29±8.11	90	21.8±4.3
GCGM (mm)	30	10.45±5.92	1.08	9	25.33±10.29	3.43	39	13.88±9.46	96	22.9±4.4
Masa (kg)	30	10.82±2.32	0.42	9	14.48±3.71	1.24	39	11.66±3.08	103	28.1±4.6
% grasa	30	22.41±8.27	1.51	9	42.59±13.28	4.43	39	27.07±12.79		NR
IC	29	1±0.18	0.03	9	1.08±0.21	0.07	38	1.02±0.19		NR

LR = longitud estándar; LC = longitud curva; PA = perímetro axilar; PM = perímetro máximo; PC = perímetro a nivel de la cadera; GCGA = grosor de la capa de grasa de la zona dorsal a la altura del perímetro axilar; GCGM = grosor de la capa de grasa de la zona dorsal a la altura del perímetro máximo; % grasa = porcentaje de grasa estimado; IC = índice de condición corporal.

b) Comparación de los rangos de referencia de los parámetros hematológicos de las crías de *Phoca vitulina richardii* capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015, y los publicados para crías de Alaska y California.

	ITS		EPB		Agrupados		<i>Trumble y Castellini 2002</i>		<i>Lander et al. 2003</i>		<i>Greig et al. 2010</i>	
	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos
Hematocrito (L/L)	29	0.46-0.61	9	0.42-0.6	38	0.45-0.61	175	0.48-0.63	42	0.42-0.79 ²	40	0.49-0.69 ²
Hemoglobina (g/L)	29	163.02-215.46	9	152.57-212.99	38	160.35-215.07	175	174-258 ²	42	162-248 ²	40	173-239 ²
Eritrocitos (x10 ¹² /L)	29	4.43-6.22	9	4.3-6.08	38	4.4-6.18		NR	42	3.8-6.4 ²	40	4.7-6.43 ²
VGM ¹ (fL)	29	92.07-109.88	9	85.05-111.95	38	90.21-110.57		NR	42	100.9-122.7 ²	40	99-113
CGMH ¹ (g/L)	29	332.72-373.46	9	336.62-380.7	38	333.38-375.44	175	324-462 ²	42	286-389 ²	40	328-390 ²
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	29	129.55-675.56	9	194.47-736.86	38	143.16-691.84		NR		NR	40	153-653 ²
Sólidos totales (g/L)	29	65.9-84.59	9	69.11-87.78	38	66.38-85.62		NR		NR		NR
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	29	3.95-15.53	9	3.84-10.6	38	3.44-14.85	113	4.2-15.0 ²	42	4.6-20.8 ²	40	4.3-13.3 ²
Neutrófilos (x10 ³ /μL)	29	1.27-13.15	9	1.92-7.03	38	0.76-12.36		NR	40	2.40-13.52 ²	40	1.97-8.21 ²
Bandas (x10 ³ /μL)	29	0-0.25	9	0-0.11	38	0-0.22	37	0-0.51 ³	40	0-0.66 ²	40	0-0.31 ²
Linfocitos (x10 ³ /μL)	29	0.46-3.16	9	0-4.75	38	0.23-3.61	165	0.83-4.53 ³	40	0.97-6.45 ²	40	1.09-4.07 ²
Monocitos (x10 ³ /μL)	29	0.04-0.97	9	0-0.69	38	0-0.94	140	0-1.87 ³	40	0-1.48 ²	40	0-0.81 ²
Eosinófilos (x10 ³ /μL)	29	0-0.67	9	0-0.52	38	0-0.64	124	0-0.85 ³	40	0-2.13 ²	40	0-1.60 ²
Basófilos (x10 ³ /μL)	29	0-0	9	0-0	38	0-0	43	0-0.30 ³	40	0-1.15 ²	40	0-0.93 ²

c) **Comparación de los rangos de referencia de los analitos bioquímicos de las crías de *Phoca vitulina richardii* capturadas en Islas Todos Santos (ITS) y Estero de Punta Banda (EPB), Baja California, México, 2015, y los valores publicados para crías de Alaska y California.**

	ITS		EPB		Agrupados		<i>Trumble y Castellini 2002</i>		<i>Lander et al. 2003</i>		<i>Greig et al. 2010</i>	
	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos	n	Rangos
Glucosa (mmol/L)	29	4.49-11.78	9	5.01-13.78	38	4.51-12.36	152	6.33-12.07 ²	41	5.34-13.3 ²	35	5.49-12.04 ²
Urea (mmol/L)	29	8.48-21.59	9	10.19-23.32	38	8.81-22.08	152	5.6-19.29 ³	42	8.63-22.64 ³	35	8.91-22.1 ³
Creatinina (µmol/L)	29	34.36-112.77	9	22.44-106	38	31.28-111.42	152	38.9-88.4 ²	41	26.52-88.4 ²	35	26.52-88.4 ²
Colesterol (mmol/L)	29	4.39-11.13	9	3.3-15.2	38	3.88-12.35	152	4.31-13.13 ²	41	3.08-10.33 ²	35	3.88-11.53 ²
Triglicéridos (mmol/L)	29	0-5.52	9	0.59-3.78	38	0-5.17		NR		NR	35	0.4-1.79 ²
BT (µmol/L)	29	0-84.58	9	0-62.51	38	0-80.06	152	0-36.77	41	0-34.2	35	3.42-17.1 ²
BD (µmol/L)	14	0-31.11	6	0-55.32	20	0-39.25		NR		NR		NR
BI ² (µmol/L)	14	0-77.33	6	0-18.22	20	0-65.59		NR		NR		NR
ALT (U/L)	29	0-150.41	9	0.28-106.61	38	0-141.26	152	1.2-48.0	34	12-43	35	19-58
AST (U/L)	29	27.15-142.78	9	0-179.23	38	19.44-151.56	152	15.4-135	40	9-105	35	27-92
FA (U/L)	29	0-1031.31	9	16.94-693.5	38	0-967.44	152	2.6-716.2	41	87-1778	35	37-540
Amilasa (U/L)	29	272.87-461.4	9	204.22-659.12	38	237.5-527.34		NR		NR		NR
CK (U/L)	29	0-1162.08	9	0-676.7	38	0-1066.45	152	0-2290		NR	35	127-1403
PT (g/L)	20	59.19-73.21	7	59.51-79.63	27	58.81-75.34	152	5.0-8.2	42	54-76 ²	35	52-77 ²
Albumina (g/L)	29	30.65-43.97	9	27.54-48.01	38	29.91-44.93	152	25.7-42.1	42	25-36 ²	34	23-36 ²
Globulinas ¹ (g/L)	20	23.48-34.82	7	25.56-37.3	27	23.78-35.7	152	2.2-4.2	39	25-43 ²	34	20-54 ²
Relación A/G ¹	20	0.86-1.7	7	0.68-1.78	27	0.82-1.72	152	0.5-1.6		NR		NR
Calcio (mmol/L)	29	2.19-3.32	9	2.32-3.18	38	2.22-3.28	152	1.77-3.17 ²	42	2.15-2.87 ²	35	2.2-2.64 ²
Fósforo (mmol/L)	29	0.4-5.17	9	0-4.07	38	0.2-4.99	152	1.16-3.16 ²	41	1.58-3.39 ²	35	1.19-2.1 ²
Potasio (mmol/L)	29	2.88-4.53	9	3.33-4.61	38	2.95-4.58	152	3.2-4.4	39	3.7-6.2	35	3.8-5.1
Sodio (mmol/L)	29	141.19-149.64	9	143.19-154.14	38	140.91-151.46	152	126.1-162.5	39	149.2-162.6	35	143-157
Cloro (mmol/L)	29	98.51-108.46	9	100.47-110.86	38	98.7-109.3	152	88.9-118.5	39	106.4-114.6	35	105-117
Bicarbonato (mmol/L)	29	13.37-26.36	9	15.81-23.75	38	13.9-25.79		NR		NR		NR
Anión gap ¹ (mmol/L)	29	18.02-33.52	9	17.42-36.96	38	17.89-34.33		NR		NR		NR
DIF ¹ (mmol/L)	29	38.82-45.04	9	37.08-48.92	38	38.22-46.15		NR		NR		NR
Osmolalidad ¹ (mOsm/kg)	29	289.91-306.55	9	293.42-317.12	38	288.97-310.83		NR		NR		NR
Hierro (µg/dL)	29	0-1369.35	9	0-901.07	38	0-1286.23		NR		NR	35	68-646

BT = bilirrubina total; BD = bilirrubina directa; BI = bilirrubina indirecta; ALT = alanina transaminasa; AST = aspartato aminotransferasa; FA = fosfatasa alcalina; CK = creatina quinasa; PT = proteínas totales; DIF = diferencia de iones fuertes; ¹ = calculado; ² = unidades convertidas; ³ = calculado a partir de la literatura

ANEXO V: *Diversidad genética por locus en cada colonia*

Locus	Análisis	EPB	ITS	ISJ	IN	ISR	Todas las colonias media (SE)
Hg6.1	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	6	8	8	7	5	6.8 (0.583)
	AR	6.000	6.717	7.268	6.345	4.946	6.664*
	H _o	0.733	0.900	0.850	0.875	0.775	0.827 (0.031)
	H _c	0.631	0.820	0.793	0.756	0.760	0.752 (0.032)
	FIS	-0.162	-0.097	-0.073	-0.157	-0.019	-0.099*
Hg8.10	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	2	2	2	2	2	2 (0)
	AR	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000*
	H _o	0.667	0.475	0.500	0.550	0.475	0.533 (0.036)
	H _c	0.498	0.462	0.455	0.455	0.462	0.466 (0.008)
	FIS	-0.339	-0.028	-0.099	-0.209	-0.028	-0.143*
M11A	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	3	3	3	3	3	3 (0)
	AR	3.000	2.981	2.946	2.612	2.611	2.855*
	H _o	0.533	0.350	0.425	0.300	0.375	0.397 (0.040)
	H _c	0.424	0.472	0.401	0.359	0.313	0.394 (0.027)
	FIS	-0.257	0.259	-0.059	0.164	-0.199	-0.007*
ZcwE12	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	3	2	3	3	2	2.6 (0.245)
	AR	3.000	2.000	2.854	2.375	2.000	2.469*
	H _o	0.333	0.450	0.400	0.300	0.400	0.377 (0.027)
	H _c	0.540	0.469	0.521	0.417	0.399	0.469 (0.028)
	FIS	0.383	0.040	0.232	0.280	-0.003	0.197*
Pv11	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	5	7	7	6	7	6.4 (0.4)
	AR	5.000	5.499	5.937	5.837	6.270	5.768*
	H _o	0.667	0.575	0.675	0.650	0.725	0.658 (0.024)
	H _c	0.558	0.622	0.600	0.729	0.686	0.639 (0.031)
	FIS	-0.195	0.076	-0.124	0.108	-0.057	-0.030*
PvcE	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	3	3	4	3	3	3.2 (0.2)
	AR	3.000	2.941	3.577	2.971	2.967	3.109*
	H _o	0.333	0.100	0.250	0.125	0.225	0.207 (0.043)
	H _c	0.464	0.339	0.410	0.357	0.388	0.392 (0.022)
	FIS	0.282	0.705	0.391	0.650	0.421	0.473*
Pv9	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	3	3	3	3	3	3 (0)
	AR	3.000	3.000	3.000	3.000	2.996	3.000*
	H _o	0.733	0.650	0.700	0.675	0.575	0.667 (0.027)
	H _c	0.658	0.667	0.640	0.643	0.609	0.643 (0.010)
	FIS	-0.115	0.025	-0.094	-0.049	0.056	-0.036*

PvcA	N	15	40	40	40	40	35 (5)
	A	4	4	3	3	3	3.4 (0.245)
	AR	4.000	3.371	2.969	2.969	2.854	3.570*
	H _o	0.533	0.675	0.550	0.575	0.625	0.592 (0.026)
	H _e	0.429	0.600	0.575	0.575	0.541	0.544 (0.030)
	FIS	-0.244	-0.126	0.044	0.001	-0.155	-0.087*
Todos los Loci media (SE)	N	15 (0)	40 (0)	40 (0)	40 (0)	40 (0)	35 (1.601)
	A	3.625 (0.460)	4.000 (0.802)	4.125 (0.766)	3.750 (0.620)	3.500 (0.598)	3.800 (0.282)
	AR	3.625	3.564	3.819	3.514	3.331	3.630 (0.177)
	H _o	0.567 (0.058)	0.522 (0.085)	0.544 (0.068)	0.506 (0.087)	0.522 (0.066)	0.532 (0.031)
	H _e	0.525 (0.031)	0.556 (0.053)	0.549 (0.047)	0.536 (0.057)	0.520 (0.055)	0.537 (0.021)
	FIS	-0.081 (0.094)	0.107 (0.095)	0.027 (0.066)	0.098 (0.098)	0.002 (0.067)	0.031 (0.038)

n, tamaño de muestra; A, número medio de alelos; AR, riqueza alélica; H_o, heterocigosidad observada; H_e, heterocigosidad esperada (Nei 1987); FIS, coeficiente de endogamia; * obtenido para cada locus. EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque.

ANEXO VI: Equilibrio de Hardy-Weinberg por locus en cada colonia

Resultados de las pruebas sobre las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) para cada locus por colonia, y del déficit (DHe) o exceso de heterocigotos (EHe). Se muestran los valores de p y el coeficiente de endogamia (FIS).

Locus	Análisis	EPB	ITS	ISJ	IN	ISR	Todas las colonias
Hg6.1	HWE	EQ 0.85	EQ 0.87	EQ 0.87	EQ 0.75	EQ 0.97	EQ 1.00
	DHe						
	EHe				0.02		0.02
	FIS	<i>-0.128</i>	<i>-0.085</i>	<i>-0.060</i>	<i>-0.145</i>	<i>-0.007</i>	<i>-0.077</i>
Hg8.10	HWE	EQ 0.33	EQ 1.00	EQ 0.73	EQ 0.30	EQ 1.00	EQ 0.87
	DHe						
	EHe						
	FIS	<i>-0.308</i>	<i>-0.015</i>	<i>-0.086</i>	<i>-0.197</i>	<i>-0.015</i>	<i>-0.099</i>
M11A	HWE	EQ 1.00	EQ 0.09	EQ 1.00	EQ 0.35	EQ 0.70	EQ 0.67
	DHe		0.02				
	EHe						
	FIS	<i>-0.224</i>	<i>0.271</i>	<i>-0.047</i>	<i>0.176</i>	<i>-0.186</i>	<i>0.046</i>
ZcwE12	HWE	EQ 0.10	EQ 0.75	EQ 0.18	EQ 0.06	EQ 1.00	EQ 0.16
	DHe				0.04		0.02
	EHe						
	FIS	<i>0.412</i>	<i>0.052</i>	<i>0.244</i>	<i>0.291</i>	<i>0.009</i>	0.180
Pv11	HWE	EQ 0.87	EQ 0.86	EQ 0.81	DE 0.03	EQ 0.79	EQ 0.61
	DHe						
	EHe						
	FIS	<i>-0.162</i>	<i>0.088</i>	<i>-0.112</i>	<i>0.121</i>	<i>-0.045</i>	<i>0.004</i>
PvcE	HWE	EQ 0.13	DE 0.00				
	DHe		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	EHe						
	FIS	<i>0.314</i>	<i>0.711</i>	<i>0.401</i>	<i>0.657</i>	<i>0.431</i>	0.516
Pv9	HWE	EQ 1.00	EQ 0.14	EQ 0.88	EQ 0.97	EQ 0.62	EQ 0.88
	DHe						
	EHe						
	FIS	<i>-0.081</i>	<i>0.038</i>	<i>-0.082</i>	<i>-0.036</i>	<i>0.069</i>	<i>-0.010</i>
PvcA	HWE	EQ 1.00	EQ 0.40	EQ 0.83	EQ 0.25	EQ 0.33	EQ 0.70
	DHe						
	EHe						
	FIS	<i>-0.211</i>	<i>-0.113</i>	<i>0.057</i>	<i>0.013</i>	<i>-0.142</i>	<i>-0.056</i>
Todos los Loci	HWE	EQ 0.78	DE 0.00	EQ 0.25	DE 0.00	EQ 0.44	DE 0.00
	DHe		0.01		0.03		0.00
	EHe						
	FIS	<i>-0.044</i>	<i>0.075</i>	<i>0.023</i>	<i>0.069</i>	<i>0.009</i>	0.037

EQ, se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$); DE, no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p < 0.05$); para el déficit de heterocigotos (DHe) y el exceso de heterocigotos (EHe) se muestran los valores de p significativos; los valores de FIS en negrita son significativos ($p < 0.05$), para los que están en cursiva no se obtuvo el valor de p. EPB = Estero de Punta Banda; ITS = Islas Todos Santos; ISJ = Isla San Jerónimo; IN = Isla Natividad; ISR = Isla San Roque.