



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

Variabilidad y estructura genética de la lisa *Mugil cephalus* L.
en Golfo de México y el Pacífico Mexicano

TESIS

Que para obtener el grado de

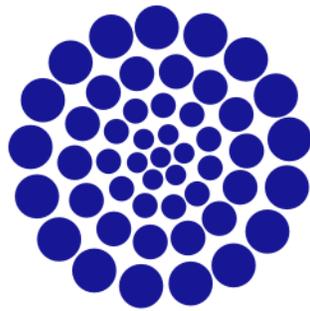
Maestra en Biología

PRESENTA

Angélica Colín Martínez

26 de marzo del 2014

La Maestría en Biología de la
Universidad Autónoma Metropolitana
pertenece al Padrón de
Posgrados de Calidad del CONACyT.



CONACYT

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

Angélica Colín Martínez

El día 26 de marzo del año 2014.

Comité Tutorial y Jurado

Tutor: Dra. Ana Laura Ibáñez Aguirre

Ana Laura Ibáñez Aguirre

Asesor: Dra. Alejandra Serrato Díaz

Alejandra Serrato Díaz

Asesor: M. en C. Susette Samí Castañeda Rico

Susette Samí Castañeda Rico

Sinodal: Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero

Luis Manuel Guevara Chumacero

Sinodal: M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar

Laura Margarita Márquez Valdelamar

*Dedicada a mis padres,
quienes siempre han sido mi motivación y mi fortaleza.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco ampliamente a mi comité tutorial. A la Dra. Ana Laura Ibáñez, por la confianza depositada, el apoyo y la libertad con la que me permitió desarrollar el proyecto.

A la Dra. Alejandra Serrato por ser mi guía en esta travesía y por tener siempre unas palabras de apoyo cuando más perdida me encontraba.

A la M. en C. Susette Sami Castañeda por sus valiosas enseñanzas con microsatélites y por facilitarme la vida con sus conocimientos.

Al Dr. Luis Guevara por todo el apoyo, comentarios y enseñanzas que me ayudaron a crecer a lo largo del posgrado.

A la M. en C. Laura Márquez por sus comentarios y por la excelente disposición por revisar el proyecto.

Al Fondo SEP-CONACYT (Ciencia Básica) 2011-01-165569. Conferido a la UAM 2012-2015. Título: Identificación de las poblaciones de peces y trazabilidad del pescado y de los productos pesqueros.

Al fondo de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, para realizar las colectas.

A CONACyT por la beca de Maestría otorgada.

A las personas que participaron en las colectas en EUA: a Mark Fisher, a Jerry Mambretti y al Dr. James Simons y que participaron en las colectas en México: a Paola Castillo-Galicia, Xavier Chiappa-Carrasco, Eddie Espinosa-Vergara, Elaine Espino Barr, Ana Laura Ibáñez Aguirre, Eloísa Pacheco Almanzar, Angel Romero-Rodríguez, porque sin su colaboración mi trabajo no sería lo mismo.

A los compañeros que me permitieron aprender algo de ellos; Emiliano, Adrián, Tanía y Sara del Laboratorio de Genética de la Conservación del CIBNOR, a José Domingo del Laboratorio de Mamíferos la UAM Iztapalapa, a Marco y Alejandro del Instituto de Ecología, a todos ellos gracias por compartir sus conocimientos conmigo.

Y, a mi compañero de vida Alejandro Ballinas, que me apoyó en las buenas y en las malas, gracias por ayudarme a organizar esta mente inquieta que nunca descansa.

Gracias, porque cada uno de ustedes hizo mejor este trabajo.

La ciencia más útil es aquella cuyo fruto es el más comunicable.
Leonardo Da Vinci

Variabilidad y estructura genética de la lisa *Mugil cephalus* L. en el Golfo de México y el Pacífico Mexicano

RESUMEN

La lisa, *Mugil cephalus*, es una especie cosmopolita de distribución costera que presenta migraciones reproductivas a mar abierto. Sus huevos y larvas son planctónicas y permanecen a expensas de las corrientes superficiales durante los primeros meses de vida. El desove se da de manera simultánea por el efecto de los Nortes, a lo largo del Golfo de México, este evento podría facilitar el encuentro de huevos y larvas de distinto origen. En este trabajo se emplearon diez loci microsátélites, en ocho localidades del Golfo y dos del Pacífico, para conocer la variabilidad y la estructura genética que presenta la lisa en el Golfo de México y contrastar los resultados con dos localidades del Pacífico Mexicano. En general, *M. cephalus* presentó una alta riqueza alélica en las localidades (10-23 alelos). La mayoría de los loci mostraron una desviación significativa del equilibrio de H-W, por un exceso de homocigos, asociada a la presencia de alelos nulos. Sin embargo, se conservaron en el análisis ya que no afectan en el cálculo de la F_{ST} . Se encontró una baja estructura genética al interior del Golfo ($F_{ST}=0.0073$ y $R_{ST}=0.0034$) por la presencia de corrientes superficiales que favorecen el transporte de huevos y larvas, propiciando una condición de panmixia en el Golfo. Mientras que, entre localidades del Golfo y el Pacífico se presentó una estructura genética de aislamiento por distancia ($F_{ST}=0.045$ y $R_{ST}=0.257$) asociada al aislamiento geográfico de estos litorales. La condición de panmixia en el Golfo de México fue apoyada por análisis de relación de

parentesco, asignación de individuos y número de migrantes por generación. En contraste, se presentaron entre tres y diez alelos exclusivos (A_e) en nueve localidades, como evidencia de la fijación de alelos dentro de localidades y por lo tanto una tendencia a la estructuración. El análisis de diferenciación genética apoyo la tendencia a estructuración en el interior del Golfo con la presencia de tres subgrupos: Mississippi, Caribe y Golfo. Las localidades del Mississippi presentan una perdida de diversidad asociada al aislamiento que provoca la corriente del río Mississippi al chocar con el flujo de la corriente de Lazo, y provocar un cuello de botella en estas localidades. En ambas localidades del Pacífico el cuello de botella se asocia a la sobreexplotación pesquera que tiene un efecto directo en los tamaños poblacionales de *M. cephalus*. De esta manera, se encontró una perdida de diversidad genética y la fijación de alelos dentro de las localidades que podría resultar en una diferenciación genética a pesar de que la variabilidad genética de *M. cephalus* es alta en el Golfo y el Pacífico.

ABSTRACT

The striped mullet, *Mugil cephalus*, is a cosmopolitan species with a coastal distribution and reproductive migrations towards the sea. His eggs and larvae were planktonic and drift along the superficial sea currents during the first months of life. The spawn occurred at the same time along the Gulf of Mexico by effects of North's winds; this event could facilitate an encounter between eggs and larvae with different origins. In this study were used ten loci microsatellites, for eight locations on the Gulf of Mexico and two in the Mexican Pacific, in order to recognize the genetic variability and structure of the striped mullet whose present in the Gulf of Mexico and contrast this result with the other two locations on the Mexican Pacific. In general, *M. cephalus* exhibits high variability on the Gulf of Mexico and on the Mexican Pacific, the allelic richness was high in all locations (10-23 alleles). Most loci present a significantly deviation of the Hardy-Weinberg equilibrium by a homozygous excess associated with the presence of null alleles. But it was included in analyze because it doesn't affect in the F_{ST} calculus. Were find a lower structure on the Gulf of Mexico ($F_{ST}=0.0073$ and $R_{ST}=0.0034$) for the superficial currents presents in the Gulf of Mexico that potential the transport of eggs and larvae propitiating a panmictic condition into the Gulf Mexico. While, between Gulf of Mexico and Mexican Pacific locations presents a structure to isolation by distance ($F_{ST}=0.045$ and $R_{ST}=0.257$) associated with the geographically isolation between this littorals. The panmictic

condition on the Gulf of Mexico was supported by analyses of parental relationship, individual's assignment and number of migrants by generation. In the other hand, were register between tree to ten alleles exclusive (*Ae*) in nine locations as evidence to alleles fixation into locations and therefore a tendency to genetic structuration. The differentiations analyzes supports this tendency to structuration on the Gulf of Mexico with presence of tree subgroups; Mississippi, Caribe, and Gulf. Mississippi locations exhibits a loss of diversity associated with the isolation represented by the current of Mississippi river crashing with the Loop current flow and causing a bottleneck in these locations. In both Pacific locations, the bottlenecks were associated to the overfishing that affects directly the population's sizes of *M. cephalus*. In this way, be found a loss of diversity and allelic fixation into the locations that could be result in a genetic differentiation although the genetic variability and connectivity of *M. cephalus* in the Gulf of México is high.

ÍNDICE GENERAL

Introducción.....	1
Marco Teórico.....	4
Genética de poblaciones.....	4
Marcadores moleculares.....	5
Microsatélites.....	6
Diversidad genética.....	7
Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	7
Variación genética.....	8
Estructura genética.....	10
Distancia genética.....	10
Estructura genética.....	11
Flujo génico.....	13
Deriva génica.....	14
Mutación.....	14
Endogamia.....	15
Antecedentes.....	15
Justificación.....	18
Objetivo General.....	19
Objetivos Particulares.....	19
Hipótesis.....	20
Material y Métodos.....	20
Obtención de muestras.....	20

Extracción de ADN.....	21
Amplificación de microsatélites.....	22
Genotipificación y lectura de microsatélites.....	23
Diversidad genética.....	24
Estructura genética.....	26
Relaciones de parentesco y cuello de botella.....	29
Resultados.....	30
Diversidad genética.....	30
Variabilidad genética.....	32
Estructura genética.....	35
Relaciones de parentesco y cuello de botella.....	42
Discusión.....	43
Diversidad genética.....	43
Estructura genética.....	46
Relaciones de parentesco y cuello de botella.....	52
Conclusiones.....	53
Literatura citada.....	56
Anexo I. Protocolo de extracción con sales.....	65
Anexo II. Equilibrio de Hardy-Weinberg por localidad.....	66
Anexo III. Distribución de frecuencias alélicas por locus.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Localidades de colecta de <i>Mugil cephalus</i>	22
Tabla 2. Características de loci microsatélites probados.....	24
Tabla 3. Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg por locus.....	31
Tabla 4. Alelos nulos para <i>Mugil cephalus</i>	32
Tabla 5. Medidas de diversidad genética para <i>Mugil cephalus</i>	33
Tabla 6. Índices $F's$ de Wright y $R's$ de Slatkin.....	35
Tabla 7. Análisis de variación molecular con base en F_{ST} y R_{ST}	36
Tabla 8. Matriz con valores de número de migrantes por generación.....	38
Tabla 9. Distancias genéticas e índices de similitud.....	39
Tabla 10. Relación de parentesco por localidad.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localidades de colecta de <i>Mugil cephalus</i>	21
Figura 2. Análisis de estructura genética para <i>Mugil cephalus</i>	37
Figura 3. Análisis espacial de poblaciones de <i>Mugil cephalus</i>	37
Figura 4. Dendrograma de distancias genéticas de Nei.....	40
Figura 5. Análisis factorial de correspondencia por localidad para <i>Mugil cephalus</i>	41
Figura 6. Análisis factorial de correspondencia por individuos para <i>Mugil cephalus</i>	41
Figura 7. Corrientes superficiales en las costas de México.....	50
Figura 8. Flujo génico en las costas de México.....	51

INTRODUCCIÓN

La familia Mugilidae comprende especies de peces teleósteos que se distribuyen alrededor del mundo, generalmente habitan aguas litorales, principalmente las zonas estuarinas y lagunas costeras a lo largo de los mares tropicales, subtropicales y templados en prácticamente todas las latitudes, excepto las regiones polares (Thomson 1997).

La familia se conforma de dos subfamilias que contienen 280 especies: **Agonostominae**, que incluye géneros primitivos como: *Agnostomus*, *Cestraeus*, *Joturus* y *Aldrichetta* y **Mugilinae**, que incluye diez géneros. Los géneros *Liza* y *Mugil* constituyen la mayor parte de la riqueza de especies de la familia como resultado de una divergencia temprana y una amplia radiación (Caldara *et al.* 1996, Thomson 1997, Durand *et al.* 2012).

Los Mugílidos se caracterizan por mantener caracteres morfológicos conservados, lo que implica que estos caracteres se mantienen constantes en linajes diferentes y por lo tanto su empleo dificulta la clasificación de los miembros de la familia (Caldara *et al.* 1996, Harrison *et al.* 2007, Aurelle *et al.* 2008, Durand *et al.* 2012).

Debido a su morfología conservada y a la alta diversidad, el género *Mugil* se ha convertido en el centro de estudios moleculares que tienen como finalidad entender y explicar las relaciones filogenéticas (Caldara *et al.* 1996, Fraga *et al.* 2007, Heras *et al.* 2008, Livi *et al.* 2011, Shen *et al.* 2011, Durand *et al.* 2012). Dos especies del género presentan la mayor divergencia

genética a nivel intrafamiliar: *M. curema* y *M. cephalus* (Caldara *et al.* 1996). Estas dos especies son consideradas como un complejo de especies por Durand *et al.* (2012), supuesto que ha sido abordado con ayuda de análisis moleculares en diferentes regiones del mundo.

Mugil cephalus fue descrita por Linnaeus (1758), se caracteriza por tener un cuerpo cilíndrico, robusto y cabeza ancha. La coloración de las escamas del dorso y los flancos se encuentra alineada formando rayas longitudinales de coloración oscura, razón por la que recibe el nombre de lisa rayada (FAO 2009). Su distribución en el Pacífico oriental abarca desde el sur de California hasta Chile e Isla Galápagos y en el Atlántico occidental desde Nueva Escocia hasta Brasil, incluyendo el Golfo de México. Mientras que en el Atlántico oriental, habita desde Francia hasta Sudáfrica, incluyendo el Mar Mediterráneo y el Mar Negro (De Silva y Silva 1979). Son peces eurihalinos que pueden tolerar una amplia gama de salinidades, permanecen la mayor parte de sus vidas en aguas salobres de salinidad variable, pero pasan un periodo corto en aguas marinas con fines reproductivos, su productividad es mayor en los estuarios que mar adentro (Ibáñez *et al.* 2012). Existen poblaciones que presentan un comportamiento anfidromo, debido a que realizan migraciones entre agua dulce y aguas salobres, este comportamiento migratorio podría ser básicamente un resultado de su intento de alimentarse (Chang *et al.* 2004).

Se ha observado que la migración reproductiva de la lisa está estrechamente asociada a factores ambientales. En el Golfo de México, la migración reproductiva es estimulada por los frentes fríos de la temporada de Nortes que se efectúan entre septiembre y enero (extendiéndose en ocasiones hasta abril), y se presenta de manera simultánea en toda el área por efecto de factores ambientales (Ibáñez y Gallardo-Cabello 2004, Ibáñez y Colín *en Prensa*). Los vientos del norte producen mareas meteorológicas, esto es debido a que un cambio en el viento y en la presión barométrica, provocan elevaciones en el nivel del mar (Secretaría de Marina 1985). Así, este evento potencia el encuentro de larvas de distinto origen en la zona nerítica.

Los Mugílidos pueden desovar cerca de las bocas de ríos, en las lagunas o en aguas marinas (Ditty y Shaw 1996, Powles 1981). Sin embargo, Arnold y Thompson (1958), mencionan que *Mugil cephalus* desova en el Golfo de México a profundidades entre 40 y 1650 m, más allá de la plataforma continental desde 50 hasta 100 km de la costa.

En general, los huevos y las larvas forman parte del plancton en mar abierto durante los primeros dos o tres meses de vida y posteriormente migran a cuerpos de agua protegidos (Díaz-Pardo y Hernández-Vázquez 1980, Collins *et al.* 1985, Gómez-Ortiz 2002). Las larvas se dispersan en el océano a través de una interacción entre procesos físicos y biológicos, como corrientes oceánicas, corrientes de viento, natación horizontal y tasas de crecimiento (Cowen y Sponaugle 2009).

La lisa tiene gran importancia comercial debido al consumo de su carne y gónada femenina, esta última es comercializada a nivel nacional y exportada principalmente a países asiáticos. Actualmente, México se ubica entre los diez principales productores de Mugilidos a nivel mundial (FAO 2012), la pesquería de este recurso, a nivel nacional, se basa en la captura de *Mugil cephalus* y *M. curema* (Anuario Estadístico de Pesca 2010).

A nivel nacional la sobre-explotación pesquera ha afectado gravemente a la especie, se registra una disminución significativa en la captura de la lisa en los últimos años, con un descenso de cerca del 50% de la producción desde 1990 comparada con las capturas de décadas anteriores (Anuario Estadístico de Pesca 2010). Por lo anterior, este trabajo pretende describir la variabilidad genética que se presenta en las costas de México y determinar la estructura genética en la zona de estudio para aportar bases a programas de mejoramiento del recurso pesquero.

MARCO TEÓRICO

Genética de poblaciones

Las poblaciones son entidades genéticamente abiertas, que pueden intercambiar genes con otras poblaciones de la misma especie, por lo tanto son dinámicas. También pueden, crecer y expandirse, o disminuir y contraerse, mediante cambios en las tasas de nacimiento, mortalidad,

migración o por unión con otras poblaciones (Eguiarte y Piñero 1990). Estos cambios tienen repercusiones sobre la estructura genética de las poblaciones. Así, la genética de poblaciones es la disciplina que busca describir los niveles de variación genética dentro y entre poblaciones, en términos de las fuerzas evolutivas que intervienen (Perelló 2002).

La diversidad genética de cada población es muy importante por dos razones: la primera, el cambio ambiental es un proceso continuo y se requiere de la diversidad genética de las poblaciones para que evolucionen y se adapten a dichos cambios y la segunda, la pérdida de diversidad genética se asocia a la endogamia y a la reducción en la capacidad reproductora (Frankham *et al.* 2002).

Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares son una herramienta muy poderosa que ha fortalecido a muchos campos de la biología. En la actualidad existen muchas técnicas moleculares que nos permiten conocer cómo se encuentran la diversidad genética en las poblaciones naturales de manera indirecta, como son los análisis de proteínas, o de manera directa con estudios de ADN. Los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples y por si son de tipo dominante, co-dominante o haploide (Simpson 1997).

Los marcadores moleculares altamente variables, como los microsatélites, complementan o reemplazan a otros marcadores o metodologías genéticas en estudios evolutivos y de conservación y son empleados en estudios donde se requiere una escala muy fina de resolución y en los cuales otro tipo de marcadores podrían presentar algunas limitaciones (Jones *et al.* 1999).

Microsatélites

Los microsatélites son marcadores moleculares codominantes, lo quiere decir que se pueden distinguir los individuos homocigos de los heterócigos (Goldstein y Pollock 1997, Beaumont y Bruford 1999). Son secuencias de ADN constituidas por motivos de repetición, que pueden contener entre 1 a 6 pares de bases, siendo altamente polimórficos (Hancock 1999). Este tipo de marcadores se han encontrado tanto en genomas eucariontes como procariontes e incluso se han identificado en genomas de mitocondrias y cloroplastos. Los microsatélites se distribuyen en regiones codificantes y no codificantes y se caracterizan por ser altamente polimórficos en cuanto a su longitud (Zane *et al.* 2002).

Estos marcadores moleculares pueden presentar tres modelos de mutación: el modelo de alelos infinitos (IAM), el modelo mutacional por pasos (SMM) y el modelo de dos fases (TPM). En el IAM la mayoría de mutaciones dan lugar a alelos diferentes a los que ya existían en la población original, por lo que en este caso la homoplasia no existe o es despreciable. En el SMM

los alelos sólo pueden mutar por la ganancia o pérdida de una sola unidad de repetición, debido a esto puede existir una gran cantidad de homoplasia. En el TPM se pueden dar mutaciones por pasos y también mutaciones de mayor magnitud, este modelo predice la varianza esperada en número de repeticiones de un microsatélite, bajo distintos procesos mutacionales e historias demográficas. En este modelo se pueden dar mutaciones viejas (alelos ya existentes en la población), pero también mutaciones nuevas (alelos nuevos en la población), con lo cual la cantidad de homoplasia existente siempre será menor que en el modelo SMM (Di Rienzo *et al.* 1994, Aranguren-Méndez *et al.* 2005, Rentaría 2007).

Diversidad genética

Equilibrio de Hardy-Weinberg

La base de la genética de poblaciones es el equilibrio Hardy-Weinberg, el cual propone que en una población panmíctica (de gran tamaño y donde los individuos se aparean al azar), donde todos los individuos son igualmente viables y fecundos, el proceso de la herencia, por sí mismo, no cambia las frecuencias alélicas ni genotípicas de un determinado locus. En esencia, el principio de Hardy-Weinberg enuncia que, en ausencia de fuerzas evolutivas, la descripción del sistema no cambia en el tiempo una vez alcanzado el equilibrio y que la consecución de éste, puede llevar una o más generaciones (Eguiarte 1999).

En ausencia de fuerzas evolutivas las frecuencias alélicas de la población no cambiarán de una generación a la siguiente y así no habrá evolución. Por lo tanto, se pueden estimar las frecuencias alélicas de la siguiente generación a partir de la relación entre las frecuencias alélicas y genotípicas, mediante el binomio $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$, donde p y q son la frecuencia del alelo A y a, respectivamente. De modo que la frecuencia relativa de las clases genotípicas en una población depende de la frecuencia de los alelos de ese locus génico. Sin embargo, el equilibrio de Hardy-Weinberg es una relación matemática que sirve para determinar las causas que desvían las frecuencias alélicas de este equilibrio (Eguiarte 1999).

Variación genética

Es la variedad de alelos y genotipos presentes en una población, especie o grupos de especies (Frankham *et al.* 2005), esta variación puede describirse utilizando la proporción de loci polimórficos, la heterocigosidad esperada, la heterocigosidad observada y la diversidad alélica (Hedrick 2005).

La proporción de loci polimórficos hace referencia a los loci que presentan más de un alelo por locus y se calcula mediante la proporción entre el total de loci polimórficos y el número total de loci. La heterocigosidad observada (H_o) es el número de heterócigos para un locus dado. La heterocigosidad esperada (H_e) es la cantidad de heterócigos que está presente en una

población, esta medida representa la variabilidad genética y se calcula con base en:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

Donde, k es el número de alelos y p_i es la frecuencia del alelo i .

La H_e es menos sensible al tamaño de muestra ya que se basa en las frecuencias alélicas (Frankham *et al.* 2002).

La diversidad alélica o riqueza alélica (N_a) es el número de alelos por locus y se expresa como:

$$N_a = \sum \frac{\text{núm. alelos por locus}}{\text{núm. loci muestreados}}$$

También se calcula el número efectivo de alelos (N_e), que puede proveer la misma información que la heterocigosis esperada si todos los alelos son igual de frecuentes y es menor influenciado por alelos raros (alelos poco frecuentes). Esta medida es usada por ser menos sensible al tamaño de muestra. Es calculado a partir de:

$$N_e = \frac{1}{p_i^2}$$

Donde, p_i es la frecuencia del alelo i (Allendorf y Luikart 2007).

Estructura genética

La estructura genética de las poblaciones se define como la cantidad de variación genética y su distribución dentro y entre las poblaciones. Las distintas medidas de estructura genética están relacionadas entre sí, y se basan en analizar las diferencias en las frecuencias alélicas. Las pruebas más sencillas simplemente comparan estadísticamente dichas frecuencias (Aranguren-Méndez *et al.* 2005).

Distancia genética

La distancia genética mide la diferenciación existente entre poblaciones de una misma especie, o entre especies. Son estimadores del tiempo de separación entre poblaciones y se basan en diferencias genéticas existentes dentro y entre poblaciones (Aranguren-Méndez *et al.* 2005). Las matrices de distancia genética pueden ser convertidas en árboles de similitud, utilizando métodos de agrupamiento, tales como, el método de agrupamiento no ponderado por pares utilizando la media aritmética (UPGMA) o el Neighbor Joining (NJ) (Goldstein y Schlotterer 1999).

El modelo para medir la distancia genética que se utiliza con mayor frecuencia es el de Nei (D_s , 1972) que puede ser expresado de dos maneras; 1) identidad genética (I), que expresa la probabilidad de que al seleccionar un alelo al azar en dos poblaciones diferentes (x y y) estos sean idénticos (Hartl y

Clark 1997); 2) calculada a partir de la identidad genética (I), la distancia genética de Nei.

La identidad genética (I) presenta valores que van de cero (si no se comparten alelos entre las poblaciones), hasta 1 (si sus frecuencias alélicas son idénticas). Mientras, los valores de distancia genética (D_s) expresan una relación inversa a la identidad (Hedrick 2005).

Estructura genética

Usualmente se emplea los estadísticos F 's de Wright o sus análogos R 's de Slatkin, que permiten comparar de manera clara y cuantitativa la diferenciación existente entre poblaciones de la misma especie y de distintas especies. Según estos estadísticos la variabilidad de una población puede ser subdividida entre sus subpoblaciones (Aranguren-Méndez *et al.* 2002).

Wright (1965) definió tres F -estadísticos: F_{ST} , F_{IT} y F_{IS} , como correlaciones entre unidades gaméticas en la población a diferentes niveles.

El F_{ST} es la correlación entre dos gametos tomados al azar de cada una de las subpoblaciones y mide el grado de diferenciación genética entre dos subpoblaciones (Piñero *et al.* 2008). Este coeficiente mide la reducción en la heterocigosis debida a diferenciación genética entre poblaciones y es la probabilidad de que dos alelos al azar de una población sean idénticos por descendencia (Frankham *et al.* 2005, Hedrick 2005, Hartl y Clark 2007) y puede ser expresada en términos de heterocigosidad como:

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

Donde, H_T es la heterocigosis esperada global y H_S es el promedio de la heterocigosis esperada dentro de subpoblaciones para todos los loci.

La F_{IS} es la correlación entre los genes de los individuos y los de la subpoblación, este índice de fijación mide la reducción de la heterocigosis de un individuo debido al apareamiento no aleatorio dentro de su subpoblación (Hartl y Clark 1997), esto es:

$$F_{IS} = \frac{H_S - H_O}{H_T}$$

Donde, H_O es la heterocigosis promedio observada a nivel subpoblacional. Este coeficiente puede abarcar tanto valores positivos como negativos. Si F_{IS} tiende a -1 si existe un exceso de heterócigos en la subpoblación, mientras que cuando tiende a 1 existe un exceso de homócigos dentro de la misma.

La F_{IT} representa la correlación entre los genes de los individuos y los de la población total y corresponde a la endogamia total o coeficiente de endogamia total de un individuo, mide la reducción en la heterocigosis de un individuo con respecto a la población total (Hartl y Clark 1997) y se calcula de la siguiente manera:

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_O}{H_T}$$

Se toman los mismos criterios de decisión que el índice de fijación F_{IS} .

El estudio de la estructura genética se basa en el análisis de las fuerzas evolutivas que actúan sobre las poblaciones. Estos estudios en poblaciones de organismos marinos son esenciales para comprender el potencial evolutivo y la sostenibilidad de éstas. Sin embargo, existe poco conocimiento acerca de la conectividad entre los hábitat que ocupan a lo largo de su distribución geográfica (Feral 2002).

Flujo génico

El pool génico de las poblaciones diverge en el tiempo como resultado de cambios ambientales, deriva génica, selección natural y endogamia; esta divergencia puede reducirse gracias a la migración o flujo génico, que se define como los mecanismos que generan movimiento de genes de una población a otra (Aguirre-Planter 2007). El flujo génico introduce nuevos polimorfismos en las poblaciones, aumentando el tamaño efectivo de las mismas, y en consecuencia su capacidad para resistir cambios azarosos en la frecuencia de alelos, disminuyendo la deriva genética y generando nuevas combinaciones de genes sobre las cuales la selección puede actuar (Macpherson *et al.* 2008).

Dilucidar los procesos que conducen a la conectividad entre poblaciones está vinculado al conocimiento de las características biológicas de las especies, tales como el éxito reproductivo, el potencial de dispersión en cualquier fase del ciclo de vida y las variaciones demográficas de las

poblaciones, así como los factores abióticos que pueden afectar a la dispersión de las especies (i.e. corrientes superficiales y barreras al flujo génico) (Casado-Amezúa 2013).

Deriva génica

Fuerza evolutiva que genera cambios en las frecuencias alélicas por azar y se produce porque las poblaciones son pequeñas demográficamente. Cuanto más pequeñas, más importante será el efecto de la deriva génica en la población ya que se presentan los llamados errores de muestreo en los que algunos individuos producen mayor número de hijos que otros sin que la selección natural sea el factor que los favorece. La deriva, tiene dos efectos: cambios en las frecuencias alélicas al azar y que eventualmente se fije alguno de los alelos (Eguiarte 1999). Así mismo, las fluctuaciones en los tamaños poblacionales pueden generar cuellos de botella y/o efecto fundador, lo que a su vez provocará que las generaciones descendientes tengan una baja variabilidad genética o baja frecuencia de algunos alelos en particular (Hedrick 2005).

Mutación

La mutación es una fuerza muy importante, ya que toda novedad y variación genética se origina a partir de ella, y por lo tanto es la fuente primaria de material para la evolución. Las tasas de mutación espontánea se consideran casi constantes en el tiempo. Sin embargo, las tasas de mutación

pueden aumentar en condiciones de estrés (Hoffmann y Parsons 1997). En microsatélites la tasa de mutación va en orden de los 10^{-9} a 10^{-10} eventos por locus por replicación (Hancock 1999).

Endogamia

La endogamia es resultado de la cruce entre individuos emparentados, esta ocasiona un incremento en el número de homócigos (Frankham *et al.* 2002), que a la larga implica una estructuración entre las poblaciones. Una forma mediante la cual es posible cuantificar la endogamia en una población es con el coeficiente de consanguinidad (F_{IS}) (Eguiarte 1999).

ANTECEDENTES

Existen numerosos estudios genéticos sobre Mugílidos, a nivel de familia, con base en secuencias del citocromo *b*, Caldara *et al.* (1996) encontraron que *Mugil cephalus* y *M. curema* presentan una marcada diferenciación en relación a otros miembros de la familia. Análisis de cariotipo ayudan a evidenciar variaciones geográficas y diferenciación genética entre poblaciones. Sin embargo, se ha observado que algunas especies de esta familia presentan un cariotipo conservado y por lo tanto no es útil para diferenciar entre poblaciones. En el caso de *M. cephalus*, Rossi *et al.* (1996), con base en poblaciones de Carolina del Norte, Florida, Hawai,

Italia, Australia y Taiwán, encontraron que no hay diferencias en el número o morfología de cromosomas para organismos de distintas poblaciones.

A nivel intraespecífico, Crosetti *et al.* (1994) con base en ADN mitocondrial encontraron que poblaciones de *Mugil cephalus* del Mediterráneo, EUA, Hawai, Galápagos, Mauritania, sur de África y Taiwán, están estructuradas genéticamente a pesar de que morfológicamente son muy similares. Asimismo, Rossi *et al.* (1998) basados en el análisis de aloenzimas en poblaciones de *M. cephalus* de Florida, el este y oeste de Italia, Egipto, Mauritania, el este y oeste de Australia, sur de África, Hawai y Galápagos, encontraron que las poblaciones presentan una marcada estructuración poblacional principalmente en zonas del este y oeste de Italia y Australia, donde se presentan más de dos linajes bien diferenciados. Rocha-Olivares *et al.* (2005) utilizaron la región control del ADN mitocondrial para analizar las poblaciones del norte del Golfo de México y el Atlántico, Hawai y Japón. Ellos encontraron una estructuración genética debida al aislamiento por distancia al comparar las poblaciones del norte del Golfo y el Atlántico con respecto a la del Pacífico, pero una falta de estructura entre el norte del Golfo de México y el Atlántico.

Livi *et al.* (2011) con base en *cyt b*, en 14 poblaciones alrededor del mundo, encontraron la diferenciación de linajes en varios sitios de la distribución de la lisa. En tanto, Durand *et al.* (2012) analizaron tres genes mitocondriales (*16S*, *COI* y *cyt b*) en 19 géneros de Mugilidos, con el fin de

revelar la complejidad taxonómica de la familia y concluyeron que *Mugil cephalus* es un complejo de especies, debido a la coexistencia de diferentes linajes en sitios como Taiwán, Nueva Zelanda, Marruecos y Nueva Caledonia. Asimismo, Shen *et al.* (2011) encontraron resultados semejantes empleando secuencias del gen mitocondrial *COI* en el noreste del Pacífico, donde encontraron tres linajes presentes asociados a la ausencia de flujo genético por efecto de las corrientes oceánicas.

Jamandre *et al.* (2009) con base en la región control mitocondrial encontraron la presencia de dos linajes diferenciados en China, uno al este y otro al sur, asociado al efecto de las corrientes sobre el flujo génico entre poblaciones. Por otra parte, Sun *et al.* (2012) estudiaron poblaciones en China y con base en el gen mitocondrial *COI* y encontraron dos linajes, uno al este de China y en Bohai Sea y el otro al sur y en Yellow Sea. Además detectaron un reciente cuello de botella para esta última, asociados a que la especie ha tenido periodos con tamaño poblacional efectivo bajo.

En el Mediterráneo y el Mar Negro, se emplearon microsatélites y el gen mitocondrial *cyt b* para analizar la estructura genética y la historia demográfica de la lisa. Los microsatélites lograron exhibir estructura de asilamiento por distancia en la zona y la presencia de tres linajes coexistiendo en el sitio (Durand *et al.* 2013).

Actualmente se han descrito 36 microsatélites específicos para *Mugil cephalus*, 11 basados en poblaciones de Italia y Australia (Miggiano *et al.*

2005), 12 en poblaciones del este de China (Xu *et al.* 2010) y 13 en poblaciones del sur de África (Shen *et al.* 2010). Todos los microsatélites descritos presentan una amplia heterocigosidad, en un intervalo promedio de 0.2593-0.976.

JUSTIFICACIÓN

Mugil cephalus es una especie de gran importancia en la dieta humana debido al consumo de su carne y de la gónada femenina o hueva que se consume nacional e internacionalmente. Además, tiene un alto potencial de cultivo ya que sus hábitos detritívoros la hacen candidata ideal para policultivos. La explotación pesquera de este recurso ubica a México como uno de los diez principales productores a nivel mundial (FAO 2009). Sin embargo, la sobre-explotación ha afectado gravemente a las poblaciones disminuyendo su tamaño poblacional (Gómez-Ortiz 2002, Anuario Estadístico de Pesca 2010).

Así, los estudios de estructura genética en esta especie son de particular relevancia para tener un adecuado manejo en las pesquerías y la acuicultura en muchos países alrededor del mundo (Robins y Ray 1986).

Mugil cephalus es considerada un complejo de especies por la diferenciación de linajes que llegan a coexistir en algunas zonas (Durand *et al.* 2012). Sin embargo, se cuentan con pocos estudios de genética

poblacional, a pesar de que estos son de gran importancia principalmente en zonas donde se explota la especie, como México.

Así, el empleo de microsátélites permitirá esclarecer la estructura genética de la especie en el Golfo de México, que es una zona con gran influencia de corrientes superficiales, además de encontrarse bajo una fuerte presión antropogénica. Asimismo, este estudio aportara las bases para la identificación y trazabilidad del material biológico.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo es determinar la variación y la estructura genética de *Mugil cephalus* en el litoral del Golfo de México y del Pacífico Mexicano.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la variabilidad genética de *Mugil cephalus* en el Golfo de México y el Pacífico Mexicano.
- Determinar la estructura genética de *M. cephalus* en Golfo de México.
- Estimar el grado de conectividad entre localidades del Golfo de México.
- Estimar el grado de diferenciación entre las localidades del Golfo de México con respecto a las del Pacífico Mexicano.

HIPÓTESIS

Se espera que las poblaciones locales de *Mugil cephalus* del Golfo de México se comporten como una población panmíctica debido a: 1) los altos niveles de dispersión determinados por la conducta migratoria de la especie con fines reproductivos, y 2) al efecto de las corrientes oceánicas que transportan las larvas a lo largo del Golfo de México. Además, esta hipotética población panmíctica mostrará nulos niveles de flujo genético y, por lo tanto, altos niveles de diferenciación con respecto a las muestras del Pacífico Mexicano, que se encuentran asociados al aislamiento geográfico los litorales debido al cierre del istmo de Panamá.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de muestras

El estudio se llevó a cabo con ejemplares obtenidos de capturas comerciales de los años 2009 al 2012 de diez localidades: ocho en el Golfo de México y dos en el Pacífico Mexicano. Las localidades muestreadas fueron Charlotte Harbor (Ch), FL, Cedar Key (Ce), FL, Apalachicola Bay (Ap), FL, Sabine Lake (Sl), TX, Laguna Madre (Ma), TS, Laguna de Tamiahua (Ta), VZ, y las costas de Tabasco (Tb) y Sisal (Si), en el Golfo de México, y las costas de Mazatlán (Mz) y la Laguna de Cuyutlán (Cu), CL, en el Pacífico Mexicano (Fig. 1). El número de ejemplares colectados por localidad varió con respecto a la

ocurrencia de la especie y la temporada de muestreo (Tabla 1). Para las lagunas Tamiahua y Madre se obtuvieron colectas de tres años.

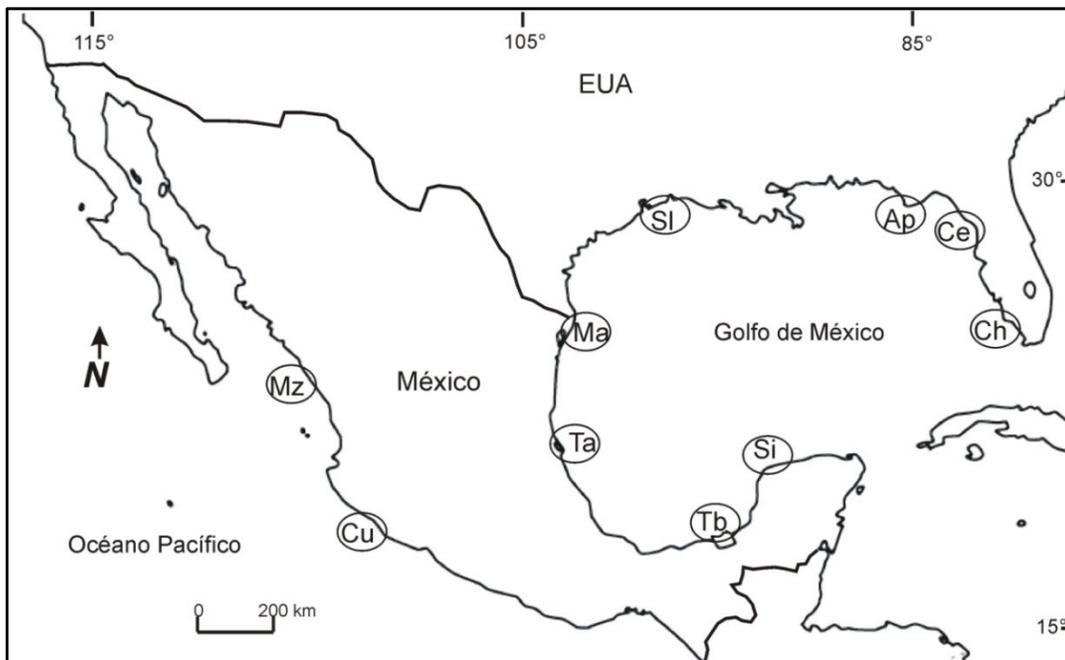


Figura 1. Localidades de colecta de *Mugil cephalus*. Donde; Ch= Charlotte Harbor (Florida), Ce=Cedar Key (Florida), Ap=Apalachicola Bay (Florida), SI=Sabine Lake (Texas), Ma=Laguna Madre (Tamaulipas), Ta=Laguna de Tamiahua (Veracruz), Tb=Costa de Tabasco, Si=Costa de Sisal, Mz=Costa de Mazatlán y Cu=Laguna de Cuyutlán (Colima).

Los individuos capturados fueron pesados, medidos y sexados. A cada ejemplar se le cortó un trozo de aleta y se conservó en etanol al 100%, posteriormente se realizaron dos recambios por alcohol al 80% para la conservación del tejido.

Extracción de ADN

Las extracciones de ADN se realizaron a partir de aleta empleando el protocolo de extracción con sal común (modificado de Lopera-Barrero *et al.* 2008, Anexo I). Se obtuvieron 323 extracciones de ADN de *Mugil cephalus*

variando entre diez y 54 muestras por localidad (Tabla 1). La calidad del ADN fue verificada en geles de agarosa al 0.8%, los geles se corrieron por 35-40 minutos y se visualizaron en un fotodocumentador (Gel Logic 2200 Pro). Se cuantificó la concentración de ADN de cada muestra con un biofotómetro NanoDrop 2000c y se realizaron diluciones de cada muestra para obtener una concentración de 50 ng/ μ l.

Tabla1. Localidades de colecta de *Mugil cephalus*. Se muestra el nombre de la localidad, estado, tamaño de muestra (n) y año de colecta.

Localidad	Estado	n	2009	2010	2012
Charlotte Harbor	Florida	28			X
Cedar Key	Florida	39			X
Apalachicola Bay	Florida	15			X
Sabine Lake	Texas	10			X
Laguna Madre	Tamaulipas	54	X	X	X
Laguna de Tamiahua	Veracruz	54	X	X	X
Costa de Tabasco	Tabasco	30			X
Costa de Sisal	Yucatán	25			X
Costa de Mazatlán	Mazatlán	34			X
Laguna de Cuyutlán	Colima	34			X

Amplificación de microsatélites

Se probaron 24 microsatélites específicos para *Mugil cephalus* (Tabla 2), descritos previamente por Miggiano *et al.* (2005) y Shen *et al.* (2010). La amplificación se realizó por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con un volumen final de 12.5 μ l que contenían las siguientes concentraciones: 0.25 μ l de Primer Forward (10 μ M), 0.25 μ l de Primer Reverse (10 μ M), 0.75 μ l de Primer Forward con M₁₃, 6.25 μ l de *Taq* Master

Mix (Promega), 0.3 µl MgCl₂ (25 mM), 1 µl de ADN y 3.70 µl de agua destilada. La amplificación se realizó en un termociclador SelectCycler (BioProducts) con el siguiente programa: 5 min a 95°C, 30 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s de 54 °C a 65 °C (Tabla 2) y 90 s a 72°C, 10 min a 72°C y una temperatura final de 4 °C. El producto se corrió en geles de agarosa al 0.8% para comprobar que se obtuvo una amplificación, los geles corrieron por 35-40 minutos y se visualizaron en un fotodocumentador (Gel Logic 2200 Pro).

Genotipificación y lectura de microsatélites

El producto de PCR fue separado mediante electroforesis capilar en un secuenciador automático, por lo que los primers fueron marcados con fluorescencia (mediante la adición de un fluoróforo en el extremo 5' del primer forward, Schuelke 2000). La genotipificación de los microsatélites se realizó en un secuenciador ABI PRISM 3130 XL utilizando 9.25 µl de Formamida HiDi (Applied Biosystems), 0.6 µl de LIZ-600 (Applied Biosystems) y 2 µl del producto de PCR, sometiendo la muestra a un paso previo de desnaturalización durante 5 min a 95°C. La lectura de los microsatélites, para determinar el tamaño de los alelos, se analizó con el programa GeneMarker v.2.4.0.

Tabla 2. Características de los loci microsatélites probados en *Mugil cephalus*. Se presenta el nombre del locus (en negritas los loci amplificados), motivo de repetición, temperatura de alineamiento (T_a), intervalo de alelos reportados, fluoróforo con que se marcó y número de acceso GenBank.

Locus	Motivo	T_a °C	Intervalo de alelos	Marca	GenBank
Mcs2FH	(TATC) ₁₁	65	191-279	PET	AY770925
Mcs17FM	(TATC) ₂₆	65	184-277	S/M	AY770932
Mcs16EM	GATA(GACA) ₃ (GATA) ₁₃	65	270-347	S/M	AY770930
Mcs1EH	(TATC) ₆ TACC(TATC) ₄ TACC(TATC) ₄	63	263-334	NED	AY770926
Mcs2DM	(TAGA) ₂₈	63	191-348	S/M	AY770922
Mcs6DM	(TCTA) ₂₈	60	226-341	FAM	AY770923
Mcs16GM	(TAGA) ₁₅	64	210-283	VIC	AY770931
Mcs4GH	(GATA) ₂ GACA(GATA) ₁₉	63	229-280	PET	AY770924
Mcs15AM	(TAGA) ₉ TAGG(TAGA) ₁₂	63	186-338	NED	AY770927
Mcs15CM	(TCTA) ₂₁ (TCTG) ₂	60	156-257	VIC	AY770928
Mcs16DM	(TAGA) ₁₀	63	144-213	FAM	AY770929
Mce-2	(GT) ₃₀	58	197-191	FAM	HM004324
Mce-3	(GT) ₂₃	54	121-195	PET	HM004325
Mce-4	(GT) ₁₃	58	173-197	VIC	HM004326
Mce-6	(CA) ₁₅	54	173-213	FAM	HM004328
Mce-7	(GT) ₁₆	58	176-222	FAM	HM004329
Mce-8	(CA) ₂₀	58	168-200	VIC	HM004330
Mce-10	(TG) ₁₂	54	124-154	PET	HM004331
Mce-11	(TG) ₁₄	58	161-187	VIC	HM004332
Mce-14	(TG) ₁₇	54	99-179	NED	HM004335
Mce-22	(GT) ₁₂	58	112-130	NED	HM004343
Mce-24	(TG) ₁₃	58	103-155	FAM	HM004345
Mce-25	(TG) ₁₄	58	119-195	PET	HM004346
Mce-27	(CA) ₁₂	58	125-169	VIC	HM004348

Diversidad genética

Se evaluó la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg de cada locus con el método de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), con su coeficiente de endogamia F_{IS} en el programa GENEPOP v.4.0 (Raymond y Rousset 1995). Con 100, 000 iteraciones y 10, 000 batches. Así mismo, se probó la desviación del equilibrio por locus para cada población de manera independiente. Y se comprobó si de manera general *Mugil cephalus* presenta una desviación significativa del equilibrio, según el método de Fisher, que

toma en cuenta todas las poblaciones y los loci analizados. A los valores de probabilidad de cada prueba se les aplicó una corrección de Bonferroni secuencial.

También, se calcularon las frecuencias y la diferenciación alélica y genotípica con el programa GENEPOP v.4.0, de igual forma a se aplicó la corrección de Bonferroni secuencial a los valores de probabilidad.

Se realizó una prueba de desequilibrio de ligamiento, para probar la asociación no aleatoria entre alelos de diferentes loci, lo cual puede ser consecuencia de eventos azarosos en poblaciones pequeñas, cuellos de botella, la unión reciente de poblaciones diferentes y cualquier tipo de selección (Frankham *et al.* 2005). Esto se probó por pares de locus por localidad y de manera general, con el programa GENEPOP v.4.0 que se basa en el algoritmo EM (Expectation-Maximization), a los valores de probabilidad se les aplico una corrección de Bonferroni secuencial.

Además, se comprobó la presencia de alelos nulos en MICROCHECKER v.2.2.3 por medio del método de Brookfield (Van Oosterhout *et al.* 2004).

Las medidas de variabilidad genética, como son el número promedio de alelos por locus o riqueza alélica, la proporción de loci polimórficos, el número de alelos observados (N_a) y el número efectivo de alelos (N_e), además de la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e) y la heterocigosidad esperada de Nei (H_{NEI}), que es la medida de variación más utilizada cuando la muestra es pequeña, fueron calculadas con los

programas ARLEQUIN v.3.0 (Excoffier *et al.* 2005), GENEPOP v.4.0 (Raymond y Rousset 1995), con 100, 000 iteraciones y 10, 000 batches.

Las distancias genéticas y el índice de similitud de Nei (1972) fueron calculados entre pares de poblaciones con GenAlex v.6.5. Además, con base en estas distancias genéticas se construyó un dendrograma para observar las diferencias genéticas a nivel interpoblacional en el programa TFGPA v.1.3 (Miller 1997), con base en el algoritmo UPGMA.

Estructura genética

Se realizó una prueba de Mantel (1967), para comprobar si existe correlación entre la matriz de distancias genéticas y una de distancia geográficas, al distribuir los datos de manera aleatoria evalúa la probabilidad de que la correlación entre las dos matrices sea mayor que la encontrada por azar. La matriz de distancias geográficas se calculó a partir de la herramienta de mapas de Google, INEGI (2012), en km. La prueba fue realizada en el programa Mantel v.2.0 (Liedloff 1999), con 10, 000 iteraciones.

Se utilizó el programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.* 2000) para determinar el número de poblaciones genéticas para *Mugil cephalus*. Este programa permite identificar subpoblaciones y asignar a los individuos, de manera probabilística, a cada una de ellas empleando como base análisis Bayesianos. Las condiciones de corrida fueron 100, 000 iteraciones y 10, 000 batches se probó desde K=2 hasta K=11 con 20 corridas por K. También, se

realizó un análisis espacial en el paquete de R, Geneland (Guillot *et al.* 2005), para localizar discontinuidades genéticas entre las poblaciones y determinar el número de grupos presentes en el área de estudio. Este análisis toma en consideración el área que puede ocupar una especie lo que lo hace de utilidad en especies que presentan grandes desplazamientos o movimientos migratorios como *M. cephalus*. Las condiciones de corrida fueron 1, 000,000 de iteraciones y 100 de thinning.

Los estadísticos F de Wright son los parámetros más utilizados para describir la estructuración genética de una población (Weir y Cockerham 1984, Hedrick 2005). Las F_{ST} pareadas fueron calculados con el programa ARLEQUIN v.3.0 (Excoffier *et al.* 2005), mientras que las F_{IS} y F_{IT} fueron calculadas con el programa GENEPOP v.4.0 (Raymond y Rousset 1995), con el método propuesto por Weir y Cockerham (1984). Con el programa Free-NA se estimó la F_{ST} de Weir (1996) mediante el método de ENA (Chapuis y Estoup 2007), el cual corrige cualquier efecto provocado por la presencia de alelos nulos.

La R_{ST} es otra medida de estructuración, equivalente a la F_{ST} , que es más recomendada para estimar la estructuración cuando se utilizan microsatélites (Hedrick 2005), ya que considera un modelo de mutación de step by step y el tamaño de los alelos al hacer el cálculo de la varianza y no el valor de He como en el caso de la F_{ST} . Los valores de R_{IS} y R_{IT} también fueron calculados con el programa GENEPOP v.4.0 (Raymond y Rousset 1995), con

el método propuesto por Weir y Cockerham (1984). Los valores de R_{ST} pareadas fueron obtenidos con el programa ARLEQUIN v.3.0 (Excoffier *et al.* 2005), utilizando los valores predeterminados por el programa.

El número de migrantes (Nm) por generación entre poblaciones fue calculado con base en las F_{ST} y R_{ST} pareadas en el programa ARLEQUIN v.3.0 (Excoffier *et al.* 2005). Según la relación $M=2Nm$, para organismos diploides.

Para determinar la fuente de variación se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) con el programa ARLEQUIN v.3.0 (Excoffier *et al.* 2005), que utiliza la suma de diferencias cuadradas entre pares de observaciones, y los componentes de diversidad en un modelo jerárquico (*e. g.* regiones, poblaciones y subpoblaciones). La AMOVA se calculó incluyendo a todas las poblaciones dentro de un sólo grupo para obtener los valores totales de estructuración y partición de la diversidad.

Se realizó un análisis de asignación basado en un método de frecuencias, en el cual se analiza el genotipo de cada individuo para determinar a qué población es más probable que pertenezca, con base en las frecuencias genotípicas de las poblaciones (Paetkau *et al.* 1995). El análisis se realizó en el programa GeneClass 2.0 (Piry *et al.* 2004).

En el programa Genetix 4.5.2 (Belkhir *et al.* 2004) se corrió un análisis factorial de correspondencias (AFC, Benzécri 1973, Escofier y Pagés 1990). Dicho programa sintetiza bases de datos grandes sin modificar su naturaleza

y los individuos son visualizados como una nube de puntos en un hiperespacio que tiene tantas dimensiones como número de alelos.

Relaciones de parentesco y cuello de botella

Se determinó el coeficiente de relación entre pares de individuos que comparten un genotipo similar, determinando el nivel de significancia para cuatro posibles relaciones: 1) no relacionados (NR), 2) medio hermanos(MH), 3) hermanos (H) y 4) padre/cría(P/C), a partir de los supuestos de que no hay endogamia y la población es cerrada. Para esto se empleó el programa ML-RELATE, que utiliza un análisis de máxima verosimilitud, además este programa incorpora el cálculo de alelos nulos para reducir el posible error (Kalinowski *et al.* 2006).

Se evaluó si las poblaciones han pasado por un reciente cuello de botella a partir de las desviaciones significativas del equilibrio comparando la H_e y H_o . Para esto se utilizó el programa BOTTLENECK (Piry *et al.* 1999), con 10, 000 iteraciones. Este programa utiliza los dos modelos básicos de mutación: de alelos infinitos (IAM) y el de mutación de un paso (single-step o step-wise mutation; SMM) y el modelo de dos fases (TPM) que integra los dos modelos anteriores (Chakraborty y Nei 1977).

RESULTADOS

De los 24 loci analizados se lograron amplificar diez para todas las localidades analizadas, todos los loci fueron polimórficos en las diez localidades (Tabla 2). Los loci amplificados fueron probados en poblaciones de Taiwán, el este de Australia, España y Perú (Shen *et al.* 2010), mientras que la mayoría de los loci que no se lograron amplificar fueron probados en poblaciones de Italia y Australia (Miggiano *et al.* 2005).

Diversidad genética

Al realizar el análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 3) se detectó que solo los loci Mce11 y Mce27 se encuentran en equilibrio ($p=0.0261$ y 0.7885 , respectivamente), el resto de los loci presentan una desviación significativa del mismo. Los valores del coeficiente de endogamia (F_{IS}), de acuerdo al cálculo de Weir y Cockerham, variaron entre $0.0666-0.3681$ indicando que la desviación se debe a una deficiencia de heterócigos.

El análisis de Hardy-Weinberg, realizado por localidad mostró que únicamente S1 se encuentra en equilibrio ($p=0.4982$), mientras que el resto de las localidades presentan una desviación significativa del mismo. Cada localidad presenta entre tres y cinco loci con desviación, asociado a una deficiencia de heterócigos según los valores positivos de F_{IS} calculados por el método de Weir y Cockerham (Anexo II), estos variaron entre $(-0.2932-0.5252)$, tomando en cuenta todas la poblaciones.

El análisis global que toma en cuenta los diez loci y las diez localidades, calculado por el método de Fisher, evidenció que *Mugil cephalus* presentó una desviación significativa del equilibrio en la zona de estudio ($P < 0.0001$), asociada a una deficiencia de heterocigos.

Tabla 3. Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg por locus para *Mugil cephalus*. Se presenta el locus, la heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), la probabilidad de desviación del equilibrio por cadenas de Markov (p) e índice F_{IS} de Weir y Cockerham (W&C).

Locus	H_o	H_e	p	W&C
Mce3	0.7193	0.8723	0.0000*	0.2306
Mce4	0.7677	0.8308	0.0000*	0.1292
Mce6	0.7898	0.8422	0.0027*	0.0801
Mce7	0.7785	0.8660	0.0000*	0.1453
Mce8	0.6854	0.1724	0.0160*	0.1126
Mce10	0.6501	0.7963	0.0000*	0.2454
Mce11	0.7167	0.7628	0.0261	0.1181
Mce14	0.4645	0.5985	0.0000*	0.3577
Mce25	0.5728	0.8523	0.0000*	0.3681
Mce27	0.7694	0.7640	0.7885	0.0666
Total	0.6914	0.7898	0.0000*	

* Valores significativos con corrección de Bonferroni secuencial y $\alpha = 0.05$.

La prueba de desequilibrio de ligamiento indicó que de las 45 comparaciones posibles entre los diez loci, únicamente se presentó desequilibrio en la localidad de Ce en los pares Mce7-Mce11 y Mce8-Mce11 ($P < 0.0003$) y en Ma en el par de Mce3-Mce7 ($P < 0.0001$). El análisis para cada par de loci tomando en cuenta las diez poblaciones indicó que solo los pares Mce3-Mce7 y Mce7-Mce11 presentaron valores significativos ($P < 0.0001$).

La prueba de alelos nulos evidenció la presencia de estos en la mayoría de loci, con excepción de Mce6 y Mce27 (Tabla 4). Sin embargo, al análisis del índice F_{ST} considerando y sin considerar los loci con alelos nulos ($ENA = 0.0445$ y $s/ENA = 0.04331$), indicó que no hay diferencias entre ambos cálculos por lo que no es necesario excluir los loci que los presentan.

Para cada loci se registró un alelo predominante con una frecuencia de 0.21 hasta 0.53, el alelo 183 fue el más frecuente y se presentó en el locus Mce14 con una frecuencia de 0.44 (Anexo III).

El análisis de diferenciación genética mostró que la distribución alélica entre localidades no es homogénea para ningún loci, de igual manera al tomar en cuenta los diez loci y todas las localidades se evidenció una distribución alélica diferente para cada uno ($P < 0.0001$, Anexo III).

Tabla 4. Alelos nulos para *Mugil cephalus*. Se presenta el nombre del locus, presencia de alelos nulos y los valores de p calculados con el método de Brookfield.

Locus	Alelos Nulos	Brookfield
Mce3	Si	0.1095
Mce4	Si	0.0599
Mce6	No	0.0365
Mce7	Si	0.0688
Mce8	Si	0.0483
Mce10	Si	0.1110
Mce11	Si	0.0517
Mce14	Si	0.1499
Mce25	Si	0.1727
Mce27	No	0.0297

Adicionalmente, con base en las frecuencias alélicas, se encontraron un total de 213 alelos, cada locus presentó entre 16 y 33 alelos. El locus Mce7 fue el que presentó el mayor número de alelos (33), mientras que los loci Mce8 y Mce27 fueron los que presentaron el menor número de alelos (16 cada uno). El número promedio de alelos por locus fue de 21 (Anexo III).

Variabilidad genética

La riqueza alélica varió entre tres y 23 alelos por locus para cada localidad. En general el número de alelos observados (N_a) es mayor que el

número efectivo de alelos (Ne). En promedio se encontraron 11 alelos por localidad. La localidad que presentó el menor número de alelos al tomar en cuenta los 10 loci fue Sl (70), mientras que el mayor número de alelos lo presento Ma (140) (Tabla 5).

Tabla 5. Medidas de diversidad genética para *Mugil cephalus*. Se presentan las medidas de variabilidad por locus, el promedio de los diez loci, el tamaño de la muestra (n) y el número de alelos exclusivos (Ae), número de alelos (Na), número de alelos efectivos (Ne), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada(He), heterocigosidad de Nei (H_{NEI}) por localidad y para el total.

Localidad		Mce3	Mce4	Mce6	Mce7	Mce8	Mce10	Mce11	Mce14	Mce25	Mce27	Media	n	Ae
Ch	Na	16	10	13	15	10	11	7	8	11	9	11.0	28	3
	Ne	10.0	7.4	8.5	7.0	3.9	6.8	2.9	3.3	7.3	4.9	6.2		
	Ho	0.786	0.857	0.857	0.786	0.821	0.750	0.679	0.500	0.536	0.893	0.746		
	He	0.900	0.864	0.883	0.857	0.743	0.853	0.656	0.693	0.863	0.798	0.811		
	H_{NEI}	0.916	0.880	0.899	0.872	0.756	0.868	0.668	0.705	0.879	0.812	0.826		
Ce	Na	17	13	13	14	10	13	8	9	10	11	11.8	39	5
	Ne	11.0	6.4	7.0	8.7	4.0	5.4	3.9	3.8	6.9	5.1	6.2		
	Ho	0.769	0.795	0.795	0.846	0.641	0.667	0.538	0.385	0.744	0.872	0.705		
	He	0.909	0.844	0.858	0.885	0.747	0.815	0.740	0.739	0.855	0.804	0.820		
	H_{NEI}	0.921	0.854	0.869	0.897	0.757	0.826	0.750	0.749	0.866	0.815	0.830		
Ap	Na	11	7	9	9	6	10	9	7	9	7	8.4	15	3
	Ne	5.4	5.6	7.4	6.0	3.8	5.4	5.1	2.3	5.8	4.2	5.1		
	Ho	0.667	0.733	0.800	0.667	0.467	0.933	0.867	0.467	0.667	0.600	0.687		
	He	0.813	0.820	0.864	0.833	0.733	0.813	0.802	0.562	0.829	0.760	0.783		
	H_{NEI}	0.841	0.848	0.894	0.862	0.759	0.841	0.830	0.582	0.857	0.786	0.810		
Sl	Na	11	7	7	9	6	9	7	3	6	5	7.0	10	0
	Ne	8.7	5.0	6.3	4.7	3.6	5.1	3.5	1.5	4.3	3.2	4.6		
	Ho	0.900	0.800	0.700	0.900	0.900	0.600	0.600	0.400	0.600	0.700	0.710		
	He	0.885	0.800	0.840	0.785	0.725	0.805	0.715	0.335	0.770	0.690	0.735		
	H_{NEI}	0.932	0.842	0.884	0.826	0.763	0.847	0.753	0.353	0.811	0.726	0.774		
Ma	Na	20	14	11	17	10	17	11	10	17	13	14.0	54	10
	Ne	13.5	8.4	7.3	9.6	3.4	6.2	4.1	3.2	7.6	5.6	6.9		
	Ho	0.815	0.907	0.870	0.907	0.648	0.741	0.648	0.481	0.444	0.815	0.728		
	He	0.926	0.882	0.864	0.896	0.708	0.837	0.757	0.688	0.868	0.821	0.825		
	H_{NEI}	0.934	0.890	0.872	0.904	0.715	0.845	0.764	0.694	0.877	0.828	0.832		
Ta	Na	19	13	14	15	10	13	12	10	14	10	13.0	54	8
	Ne	11.6	8.7	7.8	5.9	3.9	5.0	4.9	3.1	7.9	5.3	6.4		

	<i>Ho</i>	0.685	0.741	0.778	0.796	0.815	0.537	0.667	0.463	0.593	0.778	0.685		
	<i>He</i>	0.914	0.885	0.872	0.829	0.746	0.799	0.798	0.681	0.873	0.812	0.821		
	<i>H_{NEI}</i>	0.922	0.893	0.881	0.837	0.753	0.807	0.805	0.688	0.881	0.819	0.829		
Tb	<i>Na</i>	15	13	11	13	6	17	6	12	13	12	11.8	30	6
	<i>Ne</i>	7.5	9.0	6.5	7.7	3.8	6.6	3.7	3.1	5.8	6.4	6.0		
	<i>Ho</i>	0.700	0.867	0.600	0.700	0.567	0.700	0.700	0.667	0.633	0.767	0.690		
	<i>He</i>	0.867	0.888	0.846	0.870	0.734	0.848	0.732	0.681	0.828	0.843	0.814		
	<i>H_{NEI}</i>	0.881	0.903	0.860	0.885	0.747	0.862	0.745	0.693	0.842	0.858	0.828		
Si	<i>Na</i>	14	10	12	17	7	10	7	8	13	9	10.7	25	3
	<i>Ne</i>	8.9	7.2	7.1	7.6	4.4	3.6	3.7	3.0	6.1	4.8	5.6		
	<i>Ho</i>	0.960	0.800	0.880	0.800	0.760	0.720	0.880	0.400	0.600	0.800	0.760		
	<i>He</i>	0.887	0.861	0.860	0.868	0.771	0.722	0.728	0.670	0.836	0.791	0.799		
	<i>H_{NEI}</i>	0.905	0.878	0.878	0.886	0.787	0.736	0.743	0.683	0.853	0.807	0.816		
Mz	<i>Na</i>	15	6	7	18	4	6	12	3	15	6	9.2	34	7
	<i>Ne</i>	5.4	3.5	4.4	10.1	2.5	3.9	6.4	1.9	9.2	2.6	5.0		
	<i>Ho</i>	0.471	0.676	0.765	0.647	0.794	0.471	0.794	0.382	0.471	0.676	0.615		
	<i>He</i>	0.816	0.713	0.772	0.901	0.608	0.740	0.844	0.485	0.892	0.620	0.739		
	<i>H_{NEI}</i>	0.828	0.724	0.784	0.915	0.617	0.752	0.857	0.492	0.905	0.629	0.750		
Cu	<i>Na</i>	13	8	6	23	5	6	11	3	14	5	9.4	34	8
	<i>Ne</i>	5.2	4.0	4.2	15.5	2.6	3.7	6.9	1.8	10.9	3.3	5.8		
	<i>Ho</i>	0.441	0.500	0.853	0.735	0.441	0.382	0.794	0.500	0.441	0.794	0.588		
	<i>He</i>	0.806	0.751	0.763	0.936	0.609	0.731	0.856	0.452	0.908	0.701	0.751		
	<i>H_{NEI}</i>	0.818	0.763	0.774	0.950	0.618	0.742	0.868	0.458	0.922	0.711	0.762		
Total	<i>Na</i>	15	10	10	15	7	11	9	7	12	9	11	323	53
	<i>Ne</i>	8.7	6.5	6.7	8.3	3.6	5.2	4.5	2.7	7.2	4.5	5.8		
	<i>Ho</i>	0.719	0.768	0.790	0.778	0.685	0.650	0.717	0.464	0.573	0.769	0.691		
	<i>He</i>	0.872	0.831	0.842	0.866	0.712	0.796	0.763	0.599	0.852	0.764	0.790		
	<i>H_{NEI}</i>	0.890	0.848	0.859	0.883	0.727	0.813	0.778	0.610	0.869	0.779	0.806		

Se registraron 53 alelos exclusivos (*Ae*); cada localidad presentó entre tres y diez alelos exclusivos, como evidencia de alelos que se fijan dentro de las localidades, se presentaron en nueve de localidades con excepción de SI (Tabla 5).

La heterocigosidad observada (*Ho*) varió entre 0.588 y 0.760 en las localidades del Golfo y el Pacífico y fue menor a la esperada (*He*) y aún menor

que la heterocigosidad de Nei (H_{NEI}), asociada a la presencia de alelos nulos que enmascaran la diversidad (Tabla 5).

Estructura genética

El índice de fijación entre Golfo-Pacífico fue de $F_{ST}=0.045$ y $R_{ST}=0.257$, mientras que en Golfo fue de $F_{ST}=0.0073$ y $R_{ST}=0.0034$ (Tabla 6). El locus con mayor evidencia de fijación fue el Mce14 (0.133). Los valores de endogamia F_{IS} y F_{IT} variaron entre 0-0.369, mientras que los de R_{IS} y R_{IT} variaron entre 0.035-0.728, indicando cierto nivel de endogamia.

Tabla 6. Índices F 's de Wright y R 's Slatkin. Se presentan los valores de ambos índices por locus y para el total de la muestra.

Locus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}	R_{IS}	R_{ST}	R_{IT}
Mce3	0.213	0.025	0.233	0.241	0.069	0.294
Mce4	0.096	0.041	0.133	0.058	0.145	0.194
Mce6	0.068	0.014	0.082	0.035	0.042	0.076
Mce7	0.116	0.038	0.149	0.241	0.642	0.728
Mce8	0.052	0.071	0.120	0.226	0.117	0.317
Mce10	0.224	0.032	0.248	0.111	0.012	0.121
Mce11	0.102	0.021	0.120	0.145	0.032	0.173
Mce14	0.271	0.133	0.368	0.105	0.048	0.148
Mce25	0.361	0.013	0.369	0.335	0.006	0.340
Mce27	0.000	0.074	0.075	0.049	0.329	0.362
Total	0.151	0.045	0.189	0.189	0.257	0.397

El AMOVA indicó que la mayor fuente de variación está dentro de las localidades. El porcentaje de variación entre localidades fue de 4.68% y dentro de localidades de 95.32%, con base en F_{ST} , y de 26% y 74% entre y dentro, respectivamente, con base en R_{ST} (Tabla 7).

El análisis de STRUCTURE mostró que las localidades estudiadas se dividen en dos grupos genéticos bien definidos: Golfo (verde/azul) y Pacífico

(rojo). El grupo del Golfo se divide en dos subgrupos aun no diferenciados genéticamente que comparten en distinta frecuencia los dos genotipos presentes en el Golfo. El primero contiene individuos de nueve localidades del Golfo (Tb, Ta, Ma, Sl, Ap, Ce y Ch), en este el genotipo verde predomina sobre el azul. El segundo contiene individuos de tres localidades (Si, Ce y Ch), en este trabajo se nombra como subgrupo Caribe, esta principalmente representado por los individuos de Si y el genotipo azul predomina sobre el verde (Fig. 2).

Tabla 7. Análisis de variación molecular con base en F_{ST} y R_{ST} .

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de variación	Porcentaje de variación
Entre localidades	9	149.83	0.1990Va	4.68
Dentro localidades	636	25577.11	4.052Vb	95.32
Total	645	2726.94	4.25	
Índice de fijación	$F_{ST} =$	0.0468		
Entre localidades	9	76356.27	128.21Va	25.91
Dentro localidades	636	233265.41	366.61Vb	74.09
Total	645	309521.67	494.82	
Índice de fijación	$R_{ST} =$	0.2591		

El análisis de Geneland confirmó la presencia de dos grupos diferenciados (Golfo y Pacífico), así como la ausencia de barreras que pudieran impedir el flujo genético entre las localidades del Golfo (Fig. 3).

Para comprobar si existía aislamiento por distancia entre las localidades analizadas se realizó la prueba de Mantel que indicó aislamiento por distancia entre las poblaciones de Pacífico y Golfo de México ($g=2.251$, $r=0.88$). Sin embargo, al realizar la prueba solo entre las localidades del Golfo ($g=-4.323$, $r=-1.19$), no se observa una estructura de aislamiento por distancia.

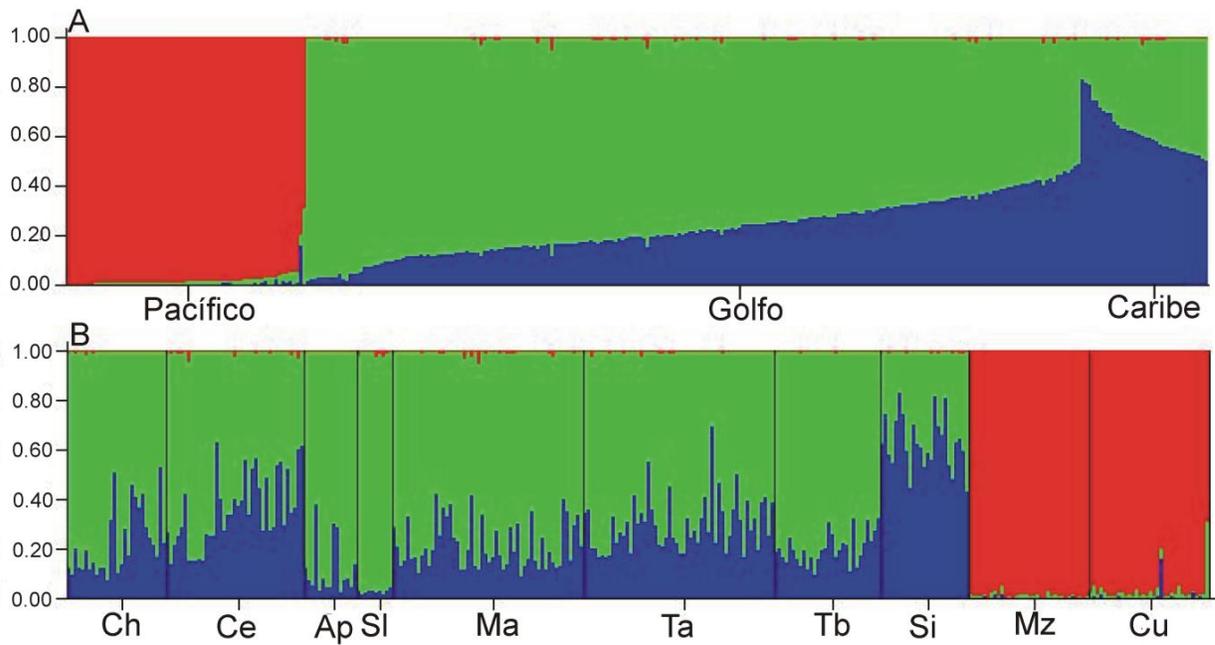


Figura 2. Análisis de estructura genética para *Mugil cephalus*. Se muestra la frecuencia genotípica organizada por grupos y subgrupo (A) y por localidades (B).

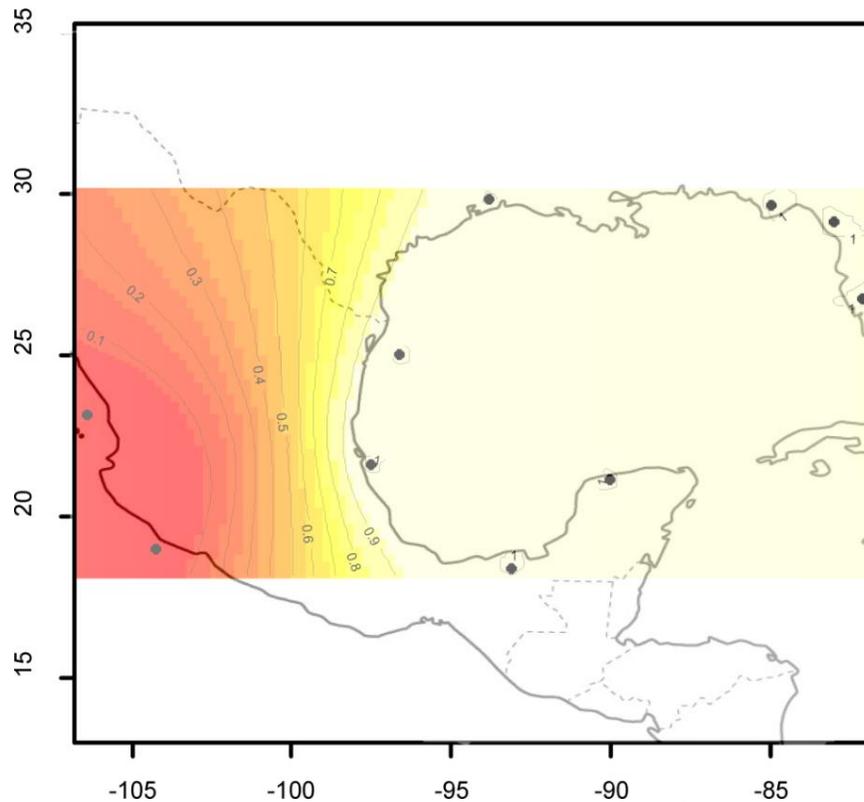


Figura 3. Análisis espacial de poblaciones de *Mugil cephalus*. Cluster 1(crema) y cluster 2 (rojo).

El número de migrantes (Nm) entre Pacífico-Golfo fue de hasta dos migrantes por generación con base en F_{ST} y menos de uno con base en R_{ST} , coincidiendo con el aislamiento geográfico de estos litorales debido al cierre del istmo de Panamá. En el Golfo de México el número de migrantes por generación vario entre cuatro y 162 con base en F_{ST} y entre ocho e infinito con base en R_{ST} . Los valores infinitos se presentan entre localidades que se comportan como una sola, las cuales no son siempre contiguas geográficamente (Tabla 8). Estos valores se presentaron entre las localidades aledañas: Ch-Ce y Sl-Ma, y las localidades discontinuas geográficamente Tb-Ch, Tb-Ap, Si-Ce y Si-Ma. Los valores máximos los presenta Ch respecto a Sl y Ap, con más de 1400 migrantes por generación. Por el contrario, la localidad de Ap presenta menos de diez migrantes por generación con respecto de Sl, Ma, Ta y Si. En el resto de las localidades del Golfo el número de migrantes varió entre 13 y 369. Entre localidades del Pacífico se registraron 31 migrantes por generación (Tabla 8).

Tabla 8. Matriz con valores de número de migrantes por generación ($Nm=M/2$) para localidades del Golfo y Pacífico, con base en F_{ST} (matriz inferior) y con base en R_{ST} (matriz superior).

	Ch	Ce	Ap	Sl	Ma	Ta	Tb	Si	Mz	Cu
Ch		∞	2813.13	1497.65	34.59	78.06	∞	76.09	<1	<1
Ce	52.27		29.24	40.27	228.41	26.57	202.76	∞	<1	<1
Ap	50.19	11.61		9.70	8.43	8.32	∞	8.13	<1	<1
Sl	19.95	12.12	41.53		∞	14.22	369.45	22.59	<1	<1
Ma	108.37	46.38	37.02	36.56		72.95	26.86	∞	<1	<1
Ta	134.11	63.55	23.13	25.54	162.48		27.59	13.29	<1	<1
Tb	44.49	31.17	36.08	30.47	134.39	79.12		19.84	<1	<1
Si	10.39	20.35	5.01	4.35	8.81	10.99	8.73		<1	<1
Mz	2.19	2.07	<1	1.63	2.27	2.30	2.07	1.74		30.90
Cu	2.29	2.26	<1	1.56	2.31	2.45	2.14	1.91	25.38	

Las distancias genéticas de Nei entre localidades variaron de 0.052-0.852, para las diez localidades, las distancias más grandes se presentaron entre Golfo-Pacífico, con un intervalo de 0.547-0.852. Entre localidades del Golfo las distancias variaron de 0.052-0.375. El índice de similitud varió de 0.427-0.949, los menores valores se presentaron entre Golfo-Pacífico con un intervalo de 0.427-0.579. Entre localidades del Golfo varió de 0.687-0.949 (Tabla 9). Estos índices indican que las localidades más similares son Ta y Ma, por el contrario las más diferenciadas son Sl de Cu. Mientras que entre localidades del Golfo la mayor diferencia se encuentra entre Sl-Si. Cabe resaltar que las distancias genéticas entre Si-Ch y Ce es menor que la que se muestra entre Si-Tb, a pesar de que son localidades continuas geográficamente, asociado a la presencia de la corriente de Lazo.

Tabla 9. Distancias genéticas e índice de similitud. Se presentan las distancias genéticas (diagonal inferior) e índice de similitud de Nei (diagonal superior).

	Ch	Ce	Ap	Sl	Ma	Ta	Tb	Si	Mz	Cu
Ch		0.910	0.879	0.846	0.928	0.931	0.899	0.819	0.552	0.551
Ce	0.094		0.818	0.824	0.923	0.931	0.903	0.877	0.524	0.543
Ap	0.130	0.201		0.847	0.887	0.870	0.873	0.702	0.519	0.464
Sl	0.168	0.194	0.166		0.882	0.871	0.863	0.687	0.465	0.427
Ma	0.074	0.080	0.120	0.125		0.949	0.932	0.813	0.562	0.551
Ta	0.071	0.072	0.139	0.138	0.052		0.927	0.839	0.571	0.579
Tb	0.106	0.102	0.136	0.147	0.070	0.076		0.801	0.526	0.523
Si	0.199	0.131	0.354	0.375	0.207	0.176	0.222		0.461	0.485
Mz	0.595	0.646	0.656	0.767	0.576	0.560	0.643	0.775		0.927
Cu	0.596	0.611	0.769	0.852	0.596	0.547	0.648	0.724	0.076	

Con base en las distancias genéticas de Nei se construyó un dendrograma que separó las localidades en dos grupos (Golfo-Pacífico). En cuanto a las localidades del Golfo las más similares son las localidades de Ma y Ta, mientras que las localidades menos similares son Ap, Sl y Si (Fig. 4).

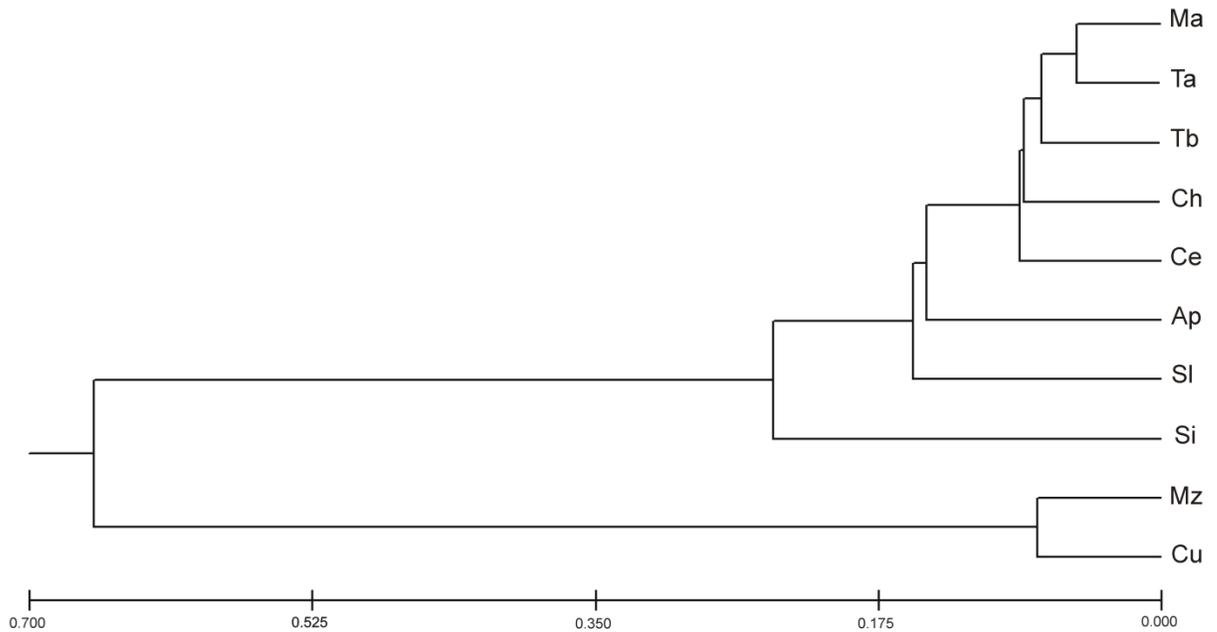


Figura 4. Dendrograma construido con base en las distancias genéticas de Nei (1972) empleando el algoritmo UPGMA.

El análisis factorial de correspondencia confirmó la presencia de dos grupos bien diferenciados (Golfo-Pacífico), en el eje 1 que explica más de 50% de la estructura. En el Golfo se observa una diferenciación de tres localidades: Si, denominada Caribe, como la más lejana al resto de localidades en sentido positivo, y Ap y Sl, denominadas Mississippi, como las más lejanas en sentido negativo. Esta diferenciación es soportada por el eje 2 que explica 10% de la estructura (Fig. 5). Al visualizar la dispersión de los individuos las diferencias genéticas entre las localidades del Golfo se reducen de manera significativa (Fig. 6). Mientras que los del Pacífico se mantienen aislados de este grupo.

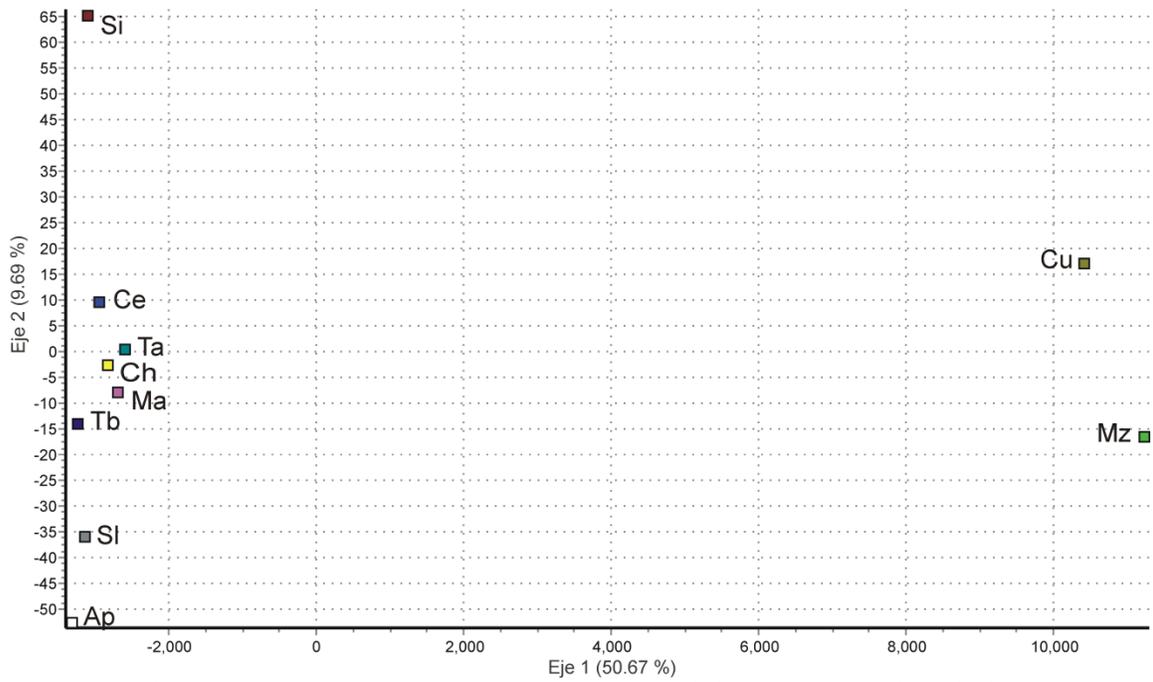


Figura 5. Análisis factorial de correspondencia por localidad para *Mugil cephalus* en 2D.

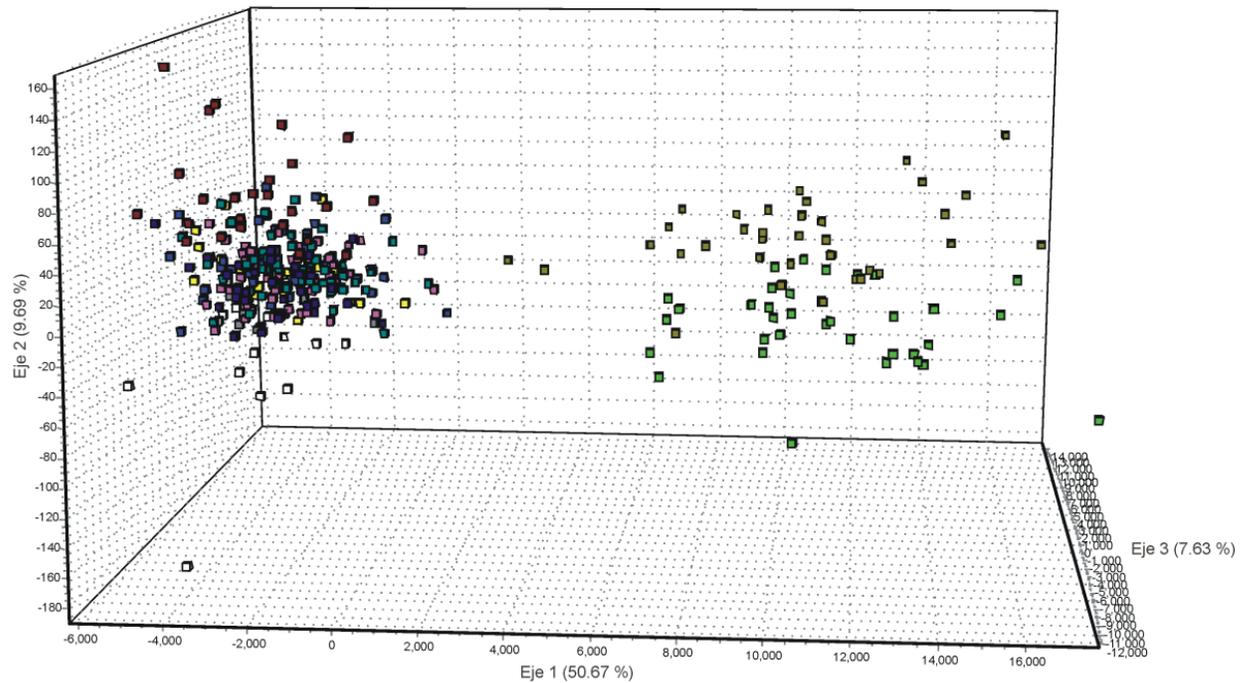


Figura 6. Análisis factorial de correspondencia de individuos para *Mugil cephalus* en 3D.

El análisis de asignación de individuos indicó que el porcentaje de individuos asignados a otra localidad varió entre 4 y 32% con excepción de las localidades de Sl, Ap y Mz en las que los individuos son asignados a su localidad de origen. En el Pacífico, cada individuo fue asignado a la localidad de la cual proviene, con excepción de dos individuos de Cu (6%), que son asignados a la localidad de Mz y uno que además de ser asignado a su localidad es asignado en menor porcentaje a las localidades de Ma y Ce, que se encuentran en el Golfo de México.

Relaciones de parentesco y cuello de botella

El análisis general de relación y parentesco evidenció que el 87% de los individuos no están emparentados (NR), el 12% son medios hermanos (MH), el 1% hermanos (H) y menos del 0.04% padres y crías (P/C). En el Golfo, el porcentaje de individuos no emparentados para cada localidad fue mayor al 87% en todos los casos y el de medios hermanos varió entre 6-13% y el de hermanos no fue mayor al 0.04%. En tanto que para el Pacífico el 40% de individuos no están relacionados, el 50% en promedio son medios hermanos y el 9% de los individuos son hermanos (Tabla 10). Es importante resaltar que el porcentaje de padres y crías en los dos litorales, es prácticamente nulo y principalmente en el Pacífico.

El resultado de BOTTLENECK, considerando a todos los individuos como una población no detecto evidencia de un cuello de botella reciente. Sin

embargo, al realizar el análisis por localidad se evidenció que cuatro localidades (Ap, Sl, Mz y Cu) presentan valores significativos en la pruebas de diferencias estandarizada y Wilcoxon de una cola ($p < 0.05$), lo que indica que estas localidades pudieron pasar por un cuello de botella reciente asociado a un exceso de homocigos. Las pruebas se realizaron bajo los modelos de mutación SMM y TPM para corroborar los resultados.

Tabla 10. Relación de parentesco por localidad. Donde NR=no relacionados, MH=medios hermanos, H=hermanos.

Localidad	NR	MH	H
Ch	87 %	13 %	0 %
Ce	88 %	12 %	0 %
Ap	88 %	11 %	0 %
Sl	88 %	12 %	0 %
Ma	89 %	11 %	0 %
Ta	91 %	9 %	0 %
Tb	93 %	7 %	0 %
Si	94 %	6 %	0 %
Mz	40 %	51 %	9 %
Cu	43 %	48 %	9 %
Total	87 %	12 %	1%

DISCUSIÓN

Diversidad genética

Los diez loci analizados fueron polimórficos en este trabajo a diferencia de los loci Mce14, Mce10 y Mce25 que son monomórficos en Taiwán, el primero, y el este de Australia, los últimos dos (Shen *et al.* 2010). Ocho de los diez loci analizados presentan una desviación significativa del equilibrio asociada a una deficiencia de heterócigos, esta puede deberse a selección

natural, alelos nulos, efecto Wahlund, deriva génica y endogamia (Hartl y Clark 1997, Frankham *et al.* 2005, Hedrick 2005).

Una de las causas más comunes de la deficiencia de heterócigos es la presencia de alelos nulos, que son alelos que no se logran amplificar debido a mutaciones en las regiones flanqueantes que impiden que el primer se adhiera (Brookfield 1996). En este estudio la mayoría de loci presenta alelos nulos, sin embargo no se eliminaron del análisis debido a que no afectan el cálculo de la F_{st} ($ENA=0.0445$ y $S/ENA=0.0433$).

Otra causa del exceso de homócigos es el efecto Wahlund por lo que se probó la diferenciación en la distribución alélica, esta evidenció diferencias en la distribución alélica de las localidades. Este efecto se presenta cuando la muestra que se considera como una sola población, en realidad se encuentra estructurada en varias subpoblaciones con frecuencias alélicas significativamente diferentes, ya sea por barreras ecológicas, físicas o temporales, lo que resulta en un exceso de homócigos (Wahlund 1928, Hedrick 2005). Esto sería un indicador de cierta estructuración en la zona de estudio.

Los resultados de este trabajo indicaron que no hay evidencia de desequilibrio de ligamiento para la mayoría de pares de loci ($p<0.05$), excepto en dos pares. Una de las causas por las que se presenta desequilibrio son la deriva génica, apareamiento no aleatorio y ubicación cercana en el genoma (Hartl y Clark 1997). En este trabajo, los valores de F_{IS} y F_{ST} indican que la

endogamia no llega a ser importante en ninguna loci, apoyado por las escasas relaciones de parentesco entre los individuos dentro de las localidades del Golfo de México. Por lo tanto, se supone que el desequilibrio de ligamiento presente entre los dos pares de loci se debe a una cercanía de estos en el genoma.

La variabilidad genética es alta tanto en el litoral del Golfo como en el Pacífico Mexicano, todos los loci fueron polimórficos, ya que cada locus presentó entre 16 y 33 alelos. Esta riqueza coincide con la que pueden llegar a presentar estos locus en poblaciones de Taiwán y Australia (4-32, 4-25, respectivamente), y es mucho mayor que la que se presenta en España y Perú (3-16, 2-10, respectivamente) (Shen *et al.* 2010).

Se encontró evidencia de la fijación de alelos en las localidades del Golfo y el Pacífico por la presencia de alelos nulos que representan cerca del 25% del total de alelos encontrados, cada localidad presentó entre tres y diez alelos exclusivos, excepto Sabine Lake.

A pesar de presentarse una deficiencia de heterocigos, el intervalo de heterocigosidad observada (0.382-0.960) por loci fue mayor a la que se reporta para estos mismos loci en poblaciones de Taiwán, Australia, España y Perú (0.472-0.976, 0.221-0.958, 0.251-0.890 y 0.425-0.975, respectivamente, Shen *et al.* 2010).

Los valores de heterocigosidad observada para las localidades del Golfo y el Pacífico (0.588-0.760) estos valores fueron menores a los encontrados en

el Mediterráneo, donde además se observa una estructura de aislamiento por distancia entre el Mar Negro, el Mar Mediterráneo y el Atlántico y también una deficiencia de heterocigos (0.871-0.920 y 0.35-0.93, respectivamente, Durand *et al.* 2013). Además, los valores de heterocigosidad encontrados en este trabajo se encuentran dentro del intervalo que presentan otros peces migratorios, como la *Anguilla japónica* (0.586-0.838, con base en microsatélites), en el noroeste del Pacífico donde presentan diferenciación genética entre localidades y que al igual que en este trabajo presenta una deficiencia de heterocigos (Tseng *et al.* 2006). En comparación a otros marcadores, la heterocigosidad encontrada con microsatélites es mayor a la encontrada con aloenzimas en la zona norte del Golfo y el Atlántico (0.104, Campton y Mahmudi 1991) y en poblaciones globales de *Mugil cephalus* (0.018-0.081, Rossi *et al.* 1998). Y con AFLP's en poblaciones de China (0.183-0.228, Liu *et al.* 2009).

Estructura genética

Los análisis de estructura genética confirmaron la presencia de dos grupos diferenciados Golfo y Pacífico ($F_{ST}= 0.045$ y $R_{ST}=0.257$), mientras que al interior del Golfo de México no se presenta una diferenciación genética entre localidades ($F_{ST}=0.0073$ y $R_{ST}=0.0034$), esta no se calculó entre localidades del Pacífico por que únicamente se cuenta con dos. Estos bajos valores de estructura coinciden con los valores encontrados en el 2000 por

Rocha-Olivares *et al.*, entre el norte del Golfo de México y el Atlántico con base en región control ($F_{ST}=0.04$). No obstante, hay sitios como el Mediterráneo donde a pesar de los valores de F_{ST} son bajos se presenta estructura genética de aislamiento por distancia entre localidades ($F_{ST}=0.024$, con aloenzimas y $F_{ST}=0.0126$, con microsatélites; Rossi *et al.* 1998, Durand *et al.* 2013).

Con base en las distancias genéticas, se observa una diferenciación entre Golfo y Pacífico del 54%. Las distancias genéticas encontradas entre Golfo-Pacífico (0.547-0.852) son mayores a las distancias reportadas para las localidades diferenciadas genéticamente de la *Anguilla japonica* (0.078-0.171, con base en microsatélites) en el noroeste del Pacífico (Tseng *et al.* 2006). Confirmando la diferenciación de los grupos Golfo-Pacífico. De igual manera, al compararlas con las distancias encontradas en el Golfo (0.052-0.375, con microsatélites), son menores. Aun así la presencia de corrientes superficiales evita que se dé una diferenciación genética en interior del Golfo de México. Comparadas con las distancias encontradas con otros marcadores entre poblaciones estructuradas de *M. cephalus* son casi tan altas como las de poblaciones de China (0.1112-0.5286, con AFLP's), pero mayores que las que se reportan entre poblaciones globales (0.000-0.083 con *cyt b* y 0.000-0.239 con aloenzimas) (Rossi *et al.* 1998, Heras *et al.* 2008, Liu *et al.* 2009, Livi *et al.* 2011).

La prueba de Mantel apoya una estructura de aislamiento por distancia entre los grupos Golfo-Pacífico. Sin embargo, al interior del Golfo no presentan este tipo de estructuración entre localidades.

Por otra parte, el análisis de varianza molecular indica que la mayor fuente de variación se encuentra dentro de las localidades, siendo responsables del 74% de la variación genética. Se han reportado valores de estructura genética, semejantes a los encontrados en este trabajo, para la *Anguilla japonica* ($F_{ST}=0.036$) que presentan un alto porcentaje de variación dentro de las localidades (95.73 %) y se distingue una reciente diferenciación de las localidades del noroeste del Pacífico (Tseng *et al.* 2006).

La tendencia a una estructuración interna en el Golfo de México, es apoyada por análisis de diferenciación alélica, correspondencia factorial, variación molecular y la presencia de alelos que se están fijando, ocasionando la formación de tres subgrupos en el interior del Golfo de México (Mississippi, Caribe y Golfo interno), soportados por el AFC. Sin embargo, la influencia de las corrientes superficiales sobre el transporte de huevos y larvas es tan elevada que evita que se dé un aislamiento genético de los tres subgrupos. Para la mayoría de especies costeras la fase larval es el estado principal de dispersión y ésta depende de la circulación del agua y las propiedades del ambiente (Cowen y Sponaugle 2009).

Al mismo tiempo, la asignación de individuos indica dos cosas: 1) el alto nivel de conectividad entre localidades del Golfo, dado por el hecho de

que cada localidad presenta un gran número de individuos que son asignados a una localidad diferente a la que fueron capturados; 2) la divergencia de las localidades Sabine Lake y Apalachicola Bay, debido a que son las únicas localidades que no presentan individuos asignados a una localidad diferente.

Esto confirma que las corrientes superficiales del Golfo de México (la desembocadura del Río Mississippi, la corriente de Lazo y los giros ciclónicos y anticiclónicos que se desprenden de ella), influyen de elevadamente en el flujo génico entre localidades (Fig. 7). Estas corrientes explican los altos niveles de intercambio genético entre localidades discontinuas como: Sisal con respecto a Cedar Key y la Laguna Madre, Tabasco con respecto a Charlotte Harbor y Apalachicola Bay y Sabine Lake con respecto a la Laguna Madre (Fig. 8).

El flujo de las corrientes superficiales del Golfo explica porque lugares con alta sobre explotación como las Lagunas Madre y Tamiahua (Ibáñez y Colín *en Prensa*), no presentan evidencia de una pérdida de diversidad significativa debido a que reciben diversidad de localidades que no están sometidas a explotación.

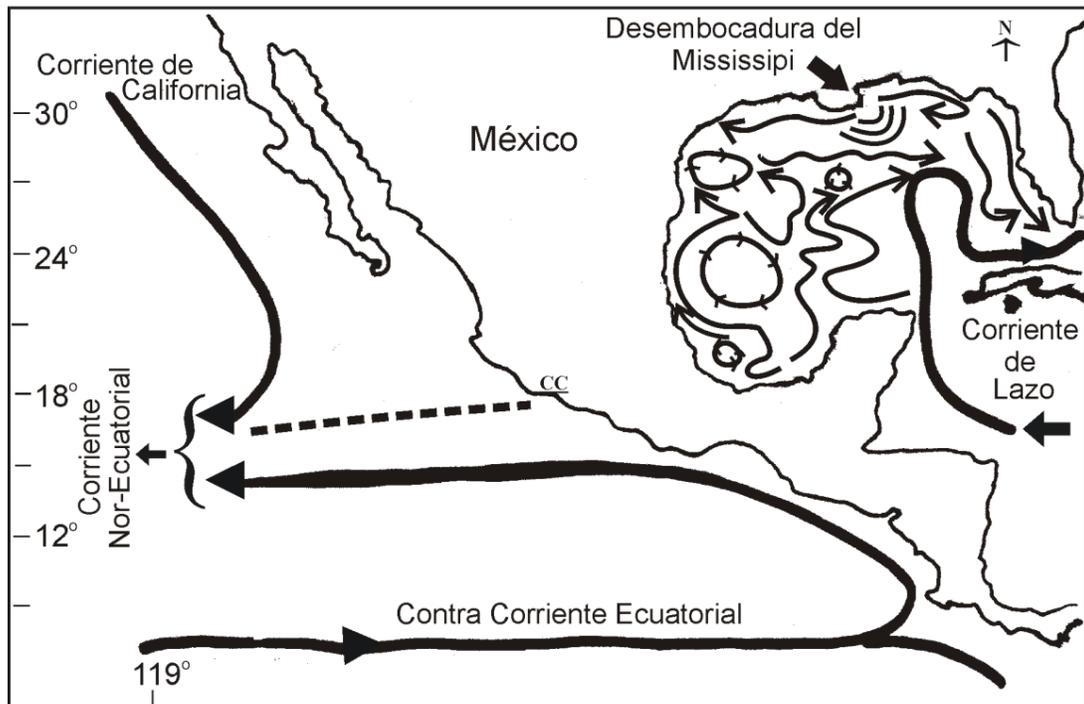


Figura 7. Corrientes superficiales en las costas de México. Se presenta la corriente de Lazo, giros ciclónicos y anticiclónicos y la desembocadura del Río Mississippi, en el Golfo, la corriente de California y la contra corriente Ecuatorial, en el Pacífico, Caleta de Campo Michoacán(CC), zona de transición entre corrientes (Modificada de Fernández *et al.* 1992)

En general, se presentó un alto flujo génico entre las localidades del Golfo de México ($Nm > 8$), excepto en la localidad de Apalachicola Bay que presentó el menor número de migrantes registrado en el Golfo con respecto a Sabine Lake, Lagunas Madre y Tamiahua y la costa de Sisal, este bajo flujo génico se asocia a un aislamiento ocasionado por la desembocadura del Río Mississippi al encontrarse con el flujo de la corriente de Lazo, el cual no afectan a las localidades de Cedar Key y Charlotte Harbor, debido a que estas reciben un importante número de migrantes de sitios lejanos (como Sisal), favorecidos por el flujo de la corriente de Lazo (Fig. 7 y 8).

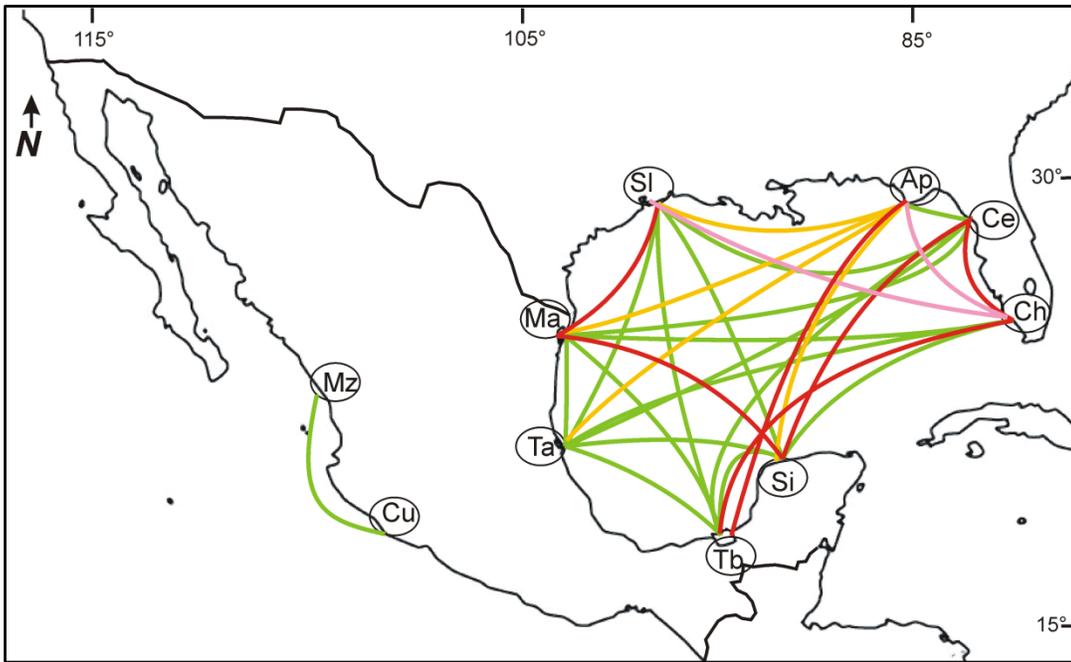


Figura 8. Flujo génico en las costas de México, clasificado en <10 (amarillo), $10-500$ (verde), $+1400$ (rosa), panmixia (rojo), con base en el número de migrantes por generación calculado con R_{ST} .

En contraste, en el Mediterráneo, básicamente existe una corriente de entrada y otra de salida con pequeños giros interiores, la lisa presenta una estructura de aislamiento por distancia entre las localidades del interior del Mediterráneo y el este del Atlántico con bajos valores de flujo génico ($Nm > 7$ al interior del Mediterráneo y $Nm = 3$ entre Mediterráneo y el este del Atlántico, Rossi *et al.* 1998). Estos valores son solo un par de migrantes menores al que presenta Apalachicola Bay, y es evidencia de que esta localidad esta presentado un aislamiento genético con respecto al resto del Golfo de México.

En el Pacífico el número de migrantes ($Nm = 31$) por generación indican alto flujo génico, el cual es favorecido por la corriente de California que viene de norte a sur (Fig. 7), en el caso de este litoral las corrientes podrían actuar

como barrera si se contara con poblaciones del sur que estén bajo la influencia de la contracorriente nor-Ecuatorial como lo hace con tres especies de Lutjanidos (Ibáñez *et al.* 2012a), en el que se empleó la morfometría de escamas para separar poblaciones, sugiriendo como zona de transición a la zona de Caleta de Campos, Michoacán que es donde se ubica el límite entre estas dos corrientes. Además, el número de individuos asignados a una localidad diferente a la que fueron capturados fue de solo tres individuos pertenecientes a la Laguna de Cuyutlán, por lo que se apoya el transporte de individuos favorecido por la corriente de California de norte a sur.

Relaciones de parentesco y cuellos de botella

Las relaciones entre los individuos dentro de las localidades del Golfo superan el 87% de individuos no relacionados, seguidos de medios hermanos con menos del 13% y un porcentaje no significativo de hermanos. Mientras que en el Pacífico la proporción entre individuos no relacionados y medios hermanos está cerca del 50-50% y se presenta un 9% de hermanos en cada localidad. Esto es apoya la elevada conectividad entre localidades del Golfo y menor entre localidades del Pacífico.

Además, se encontró evidencia de que las localidades de Sabine Lake y Apalachicola Bay, así como las del Pacífico, han pasado por un cuello de botella reciente debido a una reducción en el tamaño poblacional que

conlleva a una pérdida de diversidad alélica, esto se observa claramente ya que estas cuatro localidades presentan una menor diversidad que el resto de las localidades. En el Golfo, estos cuellos de botella se asocian a un aislamiento de las localidades por la desembocadura del Río Mississippi que al chocar con la corriente de Lazo provoca que las larvas sean regresadas a la zona costera en vez de ser transportadas a sitios más lejanos. Mientras que en el Pacífico, la reducción en el tamaño poblacional se asocia directamente a la sobrepesca ya que ha provocado una reducción de un 50% en las capturas de los últimos 30 años (Anuario Estadístico de Pesca 2010).

CONCLUSIONES

Mugil cephalus presentó una alta variabilidad genética en ambos litorales debido a su capacidad de dispersión y al elevado intercambio genético que presentó en México favorecido por las corrientes marinas.

Se confirmó la existencia de una población panmíctica en el Golfo de México, asociada a un gran número de corrientes superficiales, principalmente la corriente de Lazo y giros que se desprenden de ésta, que transportan huevos y larvas durante sus primeros meses de vida.

Los análisis genéticos apoyan que el mayor factor de dispersión de la especie se dan en la etapa larval, ya que se presentó un porcentaje de individuos que según su genotipo son asignados a una localidad diferente a

la de su origen, y que coincide con el flujo de las corrientes superficiales presentes en la zona.

En contraste, al alto nivel de conectividad entre localidades del Golfo, se presentó una tendencia a la pérdida de diversidad y se encontraron alelos que se comienzan a fijar en casi todas las localidades (25% del total).

Se evidenció una tendencia a estructuración en el interior del Golfo por la presencia de tres subgrupos; el primero aislado por las corrientes que ocasiona la desembocadura del Río Mississippi, el segundo favorecido por la corriente de Lazo que mezcla el Mar Caribe con el Golfo, Cuba y el norte del Atlántico y el tercero al interior del Golfo mezclado por los giros que se desprenden de la corriente de Lazo, principalmente.

El subgrupo Caribe presentó la mayor diferenciación genética con respecto al resto de las localidades del Golfo asociada a la corriente de Lazo que transporta una gran cantidad de migrantes entre el Caribe, Florida y Cuba. Sin embargo, para confirmar la existencia de este subgrupo se requeriría tener muestras del Mar Caribe y de Cuba.

El subgrupo Mississippi (Sabine Lake y Apalachicola Bay), presentó evidencia de haber pasado por un reciente cuello de botella asociado al aislamiento que sufren estas localidades por la desembocadura del Río Mississippi que dirige el transporte de las larvas principalmente a las costas inmediatas y en menor medida a localidades lejanas.

Se confirmó la marcada divergencia que presenta el grupo Pacífico con respecto al grupo Golfo, la cual se explica por la ausencia de flujo génico entre ambos litorales.

Las localidades en el Pacífico presentan una menor conectividad direccionada por la corriente de California. Además, presentan evidencia de una pérdida de diversidad asociada a una reducción en el tamaño poblacional de la lisa en el Pacífico, evidenciado por la disminución en las capturas pesqueras de las últimas 3 décadas.

Por lo anterior, se sugiere un mejor manejo del recurso pesquero para evitar una pérdida de diversidad genética tan elevada que pudiera derivar en una diferenciación de los subgrupos del Golfo, y por otro lado, que el Pacífico no logre recuperar la diversidad perdida en el reciente cuello de botella.

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Planter E. 2007. Flujo Génico: Métodos para estimarlo y marcadores moleculares. 49- 61 pp. En: Eguiarte LE, V Souza y X Aguirre. Ecología molecular. SEMARNAT, INE, UNAM y CONABIO, México D.F.
- Allendorf FW y G Luikart. 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing. USA.
- Anuario Estadístico de Pesca. 2010. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. SAGARPA. <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx>.
- Aranguren-Méndez JA, M Gómez & J Jordana. 2002. Potencial de los Microsatélites para la asignación de individuos dentro de raza en poblaciones a ser conservadas. V Congreso de la Sociedad Española para los Recursos Genéticos Animales y III Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales. SERGA y SPREGA. El Arca 5: 37.
- Aranguren-Méndez JA, R Román-Bravo, W Isea, Y Villasmil & J Jordana. 2005. Los microsatélites (SRT's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 13(1): 1-6.
- Arnold EL & JR Thompson. 1958. Offshore spawning of the striped mullet, *Mugil cephalus*, in the Gulf of Mexico. COPEIA 2: 130-132.
- Aurette A, RM Barthelemy, JP Quingard, M Trabelsi & E Faure. 2008. Molecular phylogeny of Mugilidae (Teleostei: Perciformes). The Open Marine Biology Journal 2: 29-37.
- Beaumont MA & MW Bruford. 1999. Microsatellites in conservation genetics. In : Microsatellites: Evolution and Applications. D. B. Goldstein & C. Shlötterer, eds. Oxford University Press.
- Belkhir K, P Borsa, L Chikhi, N Arrufaste & F Bonhomme. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Benzécri JP. 1973. L'Analyse des données; T. 2, I' Analyse des correspondences. Paris: Dunod.
- Brookfield JFY. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. Molecular Ecology 5: 453-455.
- Caldara F, L Bargelloni, L Ostellari, E Penzo, L Colombo & T Partanello. 1996. Molecular phylogeny of grey mullets based on mitochondrial

- DNA sequence analysis: evidence of a differential rate of evolution at the intrafamily level. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 6(3): 416-424.
- Campton DE & B Mahmudi. 1991. Alloenzyme variation and population structure of striped Mullet (*Mugil cephalus*) in Florida. *Copeia* 2: 485-492 pp.
- Casado-Amezúa P. 2013. Conectividad y biología de la conservación en el Mediterráneo. Una perspectiva genética basada en especies clave de invertebrados marinos bentónicos. *Choronica naturae* 3: 92-100.
- Chakraborty R & M Nei. 1977. Bottleneck effects on average heterocigosity and genetic distance with the stepwise mutation model. *Evolution* 31: 347-356.
- Chapuis MP & A Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24(3): 621-631.
- Chang CW, Y Lizuka & WN Tzeng. 2004. Migratory environmental history of the grey mullet *Mugil cephalus* as revealed by otolith Sr:Ca ratios. *Marine Ecology Progress Series*. 269: 277-288
- Collins MR. 1985. Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (South Florida) striped mullet. U.S. Fish Wildlife Service Biological Report 82. 11 pp.
- Cowen RK & S Sponaugle. 2009. Larval dispersal and marine population connectivity. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 1: 443-466.
- Crosetti D, WS Nelson & JC Avise. 1994. Pronounced genetic structure of mitochondrial DNA among populations of the circumglobally distributed grey mullet (*Mugil cephalus*). *Journal of Fish Biology* 44: 47-58.
- De Silva SS & EIL Silva. 1979. Biology of young grey mullet, *Mugil cephalus* L., populations in a coastal lagoon in Sri Lanka. *Journal Fish Biology* 15: 9-20.
- Di Rienzo A, AC Peterson, JC Garza, AM Valdes, M Slatkin & NB Freimer. 1994. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. 91: 3166- 3170.
- Díaz-Pardo E & S Hernández-Vázquez. 1980. Crecimiento, reproducción y hábitos alimenticios de la lisa, *Mugil cephalus* en la Laguna de San

- Andés, Tamps. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas 23: 109-127.
- Ditty JG & RF Shaw. 1996. Spatial and temporal distribution of larval striped mullet (*Mugil cephalus*) and white mullet (*M. curema*, Family: Mugilidae) in the northern Gulf of Mexico, with notes on mountain mullet, *Agnostomus monticola*. Bulletin of Marine Science 59(2): 271-288.
- Durand JD, KN Shen, WJ Chen, BW Jamandre, H Blel, K Diop, M Nirchio, FJ García de León, AK Whitfield, CW Chang & P Borsa. 2012. Systematics of the grey mullets (Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae): Molecular phylogenetic evidence challenges two centuries of morphology-based taxonomy. Molecular Phylogenetics and Evolution 64: 73-92.
- Durand JD, H Blel, KN Shen, ET Koutrakis & B Guinand. 2013. Population genetic structure of *Mugil cephalus* in the Mediterranean and Black Seas: a single mitochondrial clade and many nuclear barriers. Marine Ecology Progress Series 474: 243-261.
- Eguiarte LE. 1999. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. In: Núñez-Farfán J & LE Eguiarte. 1999. Evolución Biológica. Ciencias, Instituto de Ecología, UNAM. CONABIO. 457 pp.
- Eguiarte LE & D Piñero. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. Ciencias. Número especial 4. Ecología y conservación en México: 34 -47 (reimpreso) En: Nuñez-Farfán J & LE Eguiarte (editores). La evolución biológica. Facultad de Ciencias, Instituto de Ecología, UNAM, Conabio. 371-398 pp.
- Escofier B & J Pagès. 1990. Analyses factorielles simples et multiples. Paris: Dunod.
- Excoffier L, PM Smouse & JM Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics. 131: 479-491.
- Excoffier L, G Laval & S Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online 1: 47-50.
- FAO. 2009. *Mugil cephalus*. En Cultured aquatic species fact sheets. Text by Saleh, M.A. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual).
- FAO. 2012. Fisheries and Aquaculture topics. Capture fisheries resources. Topics Fact Sheets. En: *FAO Fisheries and Aquaculture Department* [online]. Rome. <http://www.fao.org/fishery/species/3050/>

- In: Gilbert, C. R. 1993. Geographic distribution of the striped mullet (*Mugil cephalus* Linneaus) in the Atlantic and eastern Pacific oceans. *F1 Scient* 56: 204-210.
- Feral JP. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 268: 121-145.
- Fernández A, A Gallegos & J Zavala. 1992. Carta Oceanográfica física 2, aspectos regionales. Atlas Nacional de México. México, D. F. Instituto de Geografía. National University of México. Vol. II.
- Fraga E, H Schneider, M Nirchio, E Santa-Brigida, LF Rodrigues-Filho & I Sampaio. 2007. Molecular phylogenetic analyses of mullets (Mugilidae, Mugiliformes) based on two mitochondrial genes. *J. Appl. Ichthyol.* 23: 598-604.
- Frankham R, JD Ballou & DA Briscoe. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. New York. 610 p.
- Frankham R, JD Ballou & DA Briscoe. 2005. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra. Segunda edición.
- Goldstein DB & DD Pollock. 1997. Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *J. Hered.* 88: 335-342.
- Goldstein BD & CC Schlotterer. 1999. Microsatellites evolution and applications. Oxford University Press, New York. 352pp.
- Gómez-Ortiz GM. 2002. Evaluación de la pesquería de lisa *Mugil cephalus* en la Laguna Madre, Tamaulipas. Instituto Nacional de la Pesca (INAPESCA). 9 pp.
- Guillot G, F Mortier & A Estoup. 2005. Geneland: A computer package for landscape genetics. *Mol Ecol Notes* 5: 712-715.
- Hancock J. 1999. Microsatellites and other simple sequence: genomic context and mutational mechanisms. En: Goldstein D, C Schlotterer (eds.). Microsatellites evolution and applications, Oxford University Press, New York. 1-10 pp.
- Harrison IJ, M Nirchio, C Oliveira, E Ron & J Gaviria. 2007. A New species of mullet (Teleostei: Mugilidae) from Venezuela, with a discussion on the taxonomy of *Mugil gaimardianus*. *Journal Fish Biology* 71: 76-97.

- Hartl DL & AG Clark. 1997. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- Hartl DL & AG Clark. 2007. Principles in population genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, EUA.
- Hedrick PW. 2005. Genetics of populations. 3rd ed. Jones and Bartlett, Boston, MA. 737 p.
- Heras S, MI Roldán & MG Castro. 2008. Molecular phylogeny of Mugilidae fishes revised. Rev. Fish. Biol. Fisheries. DOI 10.1007/s11160-008-9100-3.
- Hoffmann AA & PA Parsons. 1997. Extreme Environmental Change and Evolution. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Ibáñez AL, CW Chang, CC Hsu, CH Wang, Y Iizuka & WN Tzeng. 2012. Diversity of migratory environmental history of the mullets *Mugil cephalus* and *M. curema* in Mexican coastal waters as indicated by otolith Sr:Ca ratios. Ciencias Marinas 38(1A): 73–87.
- Ibáñez AL & Colín MA. In press. Fecundity and reproduction characteristics of *Mugil curema* and *M. cephalus* along the coast of the Gulf of Mexico. Bulletin of Marine Science.
- Ibáñez AL, E Espino-Barr & M Gallardo-Cabello. 2012a. Population connectivity among geographic variants within the Lutjanidae through fish scales shape recognition. Scientia Marina. 76(4): 667-675. doi: 10.3989/scimar.03675.09C. ISSN: 0214-8358.
- Ibáñez AL & M Gallardo-Cabello. 2004. Reproduction of the *Mugil cephalus* and *M. curema* (Pisces: Mugilidae) from a coastal lagoon in the Gulf of Mexico. Bulletin of Marine Science 75(1): 37-49.
- INEGI. <https://www.google.com.mx/maps/>. Consultado: 2 noviembre 2012.
- Jamandre BW, JD Durand & WN Tzeng. 2009. Phylogeography of the flathead mullet *Mugil cephalus* in the north-west Pacific as inferred from the mtDNA control region. Journal of Fish Biology 75: 393-407.
- Jones GP, MJ Milicich, MJ Emslie & C Lunow. 1999. Self-recruitment in a coral reef fish population. Nature 402: 802-804.
- Kalinowski ST, AP Wagner & ML Taper. 2006. ML-RELATE: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. Molecular Ecology Notes 6: 576-579.

- Liedloff A. 1999. Mantel: mantel nonparametric test calculator, ver. 2.0. School of Natural Resource Science. Queensland University of Technology. Brisbane. Australia.
- Livi S, L Sola & D Crosetti. 2011. Phylogeographic relationships among worldwide populations of the cosmopolitan marine species, the striped gray mullet (*Mugil cephalus*), investigated by partial cytochrome b gene sequence. *Biochemical Systematics and Ecology* 39: 121-131.
- Liu JY, ZR Lun, JB Zhang & TB Yang. 2009. Population genetic structure of striped mullet, *Mugil cephalus*, along the coast of China, inferred by AFLP fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology* 37: 266-274.
- Lopera-Barrero NM, JA Povh, RP Ribeiro, PC Gomes, CB Jacometo & T da Silva-Lopes. 2008. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria* 35(1): 77-86.
- Macpherson E, M Becerro, R Coma, C Palacin, M Pascual, X Turon & I Uriz. 2008. Biodiversidad Genética de organismos marinos en el parque nacional de cabrera: aplicaciones para la conservación. *Proyectos de investigación en parques nacionales*.
- Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- Miggiano E, RE Lyons, Y Li, M Dierens, D Crosetti & L Sola. 2005. Isolation and Characterization of microsatellite loci in the striped mullet, *Mugil cephalus*. *Molecular Ecology Notes* 5: 323-326.
- Miller MP. 1997. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA). Ver. 1.3. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff.
- Nei M. 1972. Genetic distances between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- Paetkau D, W Calvert, I Stirling & C Strobeck. 1995. Microsatellite analysis of population structure in the Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4: 347-354.
- Perelló VM. 2002. Conceptos básicos de genética. Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias. México, D.F. 279 p.
- Piñero D, A Barahona, L Eguiarte, A Rocha-Olivares & R Salas-Lizana. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus

- aplicaciones y perspectivas en México. Capital natural de México. Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO. México. 415-435 pp.
- Piry S, A Alapetite, J-M Cornuet, D Paetkau, L Baudouin & A Estoup. 2004. GeneClass 2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity* 95: 536-539.
- Powles H, 1981. Distribution and movements neotonic young of stuarine depedent (*Mugil spp.*, *Potomatomus saltarix*) and stuarine independent (*Coryphaena spp.*) fishes off the southeastern United States. *Rapp. P. V Reun. Cons. Int. Explor. Mer.* 178: 207-209.
- Pritchard JK, M Stephens & P Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Raymond M & F Rousset. 1995. GENEPOP (web version 3.1c): Populations software for exact test and ecumenicism. *J. Heredity.* 86: 248-249.
- Rentaría AM. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. En: Eguiarte LE, V Souza y X Aguirre (Comp). *Ecología molecular. SEMARNAT, CONABIO, UNAM. México.* 592 p.
- Robins CR & GC Ray. 1986 A field to Atlantic coast fishes of North America. *The Peterson Field Guide Series, Boston* 3(11): 1-354.
- Rocha-Olivares A, NM Garber & KC Stuck. 2000. High genetic diversity, large inter-oceanic divergence and historical demography of the striped mullet. *Journal of Fish Biology* 57: 1134-1149.
- Rocha-Olivares A, NM Garber, AF Garber & KC Stuck. 2005. Structure of the mitochondrial control region and flanking tRNA genes of *Mugil cephalus*. *Hidrobiológica* 15(2 Especial): 139-149.
- Rossi AR, M Capula, D Crosetti, L Sola & DE Campton. 1998. Allozyme variation in global populations of stripe mullet, *Mugil cephalus* (Pisces: Mugilidae). *Marine Biology* 131: 203-212.
- Rossi AR, D Crosetti, E Gornung & G Sola. 1996. Cytogenetic analysis of global populations of *Mugil cephalus* (striped mullet) by different staining techniques and fluorescent in situ hybridization. *Heredity* 76: 77-82.
- Schuelke M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature America Inc.* 18: 233-234.

- Secretaría de Marina. 1985. Atlas Oceanográfico del Golfo de México y Mar Caribe. México: Secretaría de Marina.
- Shen KN, CY Chen, WN Tzeng, JD Chen, W Knibb & JD Durand. 2010. In press. Characterization of microsatellite loci in cosmopolitan flathead mullet *Mugil cephalus*. Molecular Ecology Resources. 8 pp.
- Shen KN, BW Jamandre, CC Hdu, WN Tzeng & JD Durand. 2011. Plio-Pleistocene sea level and temperature fluctuations in the northwestern Pacific promoted speciation in the globally-distributed flathead mullet *Mugil cephalus*. Evolutionary Biology 83(11): 1471-2148.
- Simpson J. 1997. Amplified fragment length polymorphisms. Bol. Soc. Bot. Méx. 60: 73-76.
- Slatkin M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science 263: 787-792.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics 139: 457-462.
- Sun P, Z Shi, F Yin & S Peng. 2012. Genetic variation analysis of *Mugil cephalus* in China Sea based on mitochondrial COI gene sequences. Biochem Genet 50: 180-191.
- Thomson JM. 1997. The mugilidae of the World. Memoirs of the Queensland Museum 41(3): 457-562.
- Tseng MC, WN Tzeng & SC Lee. 2006. Population genetic structure of the Japanese eel *Anguilla japonica* in the northwest Pacific Ocean: evidence of non-panmictic populations. Marine Ecology Progress Series 308: 221-230.
- Van Oosterhout C, WF Hutchinson, DPM Wills y P Shipley. 2004. MICROCHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes 4: 535-538.
- Wahlund S. 1928. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen von Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. Hereditas 11:65-106.
- Weir BS. 1996. Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data. Sinauer Associates, INC. Publishers, Sunderland, Massachusetts. 283 p.
- Weir BS & CC Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38(6): 1358-1370.

- Wright S. 1965. Interpretation of population structure by F statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Xu TJ, DQ Sun, G Shi y RX Wang. 2010. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers in the grey mullet (*Mugil cephalus*). *Genetics and Molecular Research*. 9(3): 1791-1795.
- Zane L, L Bargelloni & T Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Mol. Ecol.* 11: 1-16.

ANEXO I. Protocolo de extracción con sales

Lisis

Colocar la muestra de tejido o aleta en un tubo de 1.5 ml y dejar secar.

Posteriormente agregar:

- ✓ 410 µl de buffer de extracción (Tris-Base-HCl, NaCl, EDTA y agua destilada)
- ✓ 90 µl de SDS al 10%
- ✓ 15 µl de Proteinasa K [10 ng/ml]

Vortexear las muestras por cerca de un minuto e incubar por 2 o 3 horas a 55°C (puede quedar toda la noche).

Precipitación

Centrifugar a 14000 rpm durante 10 min y conservar el sobrenadante. Agregar 200 µl de NaCl 5M y agitar hasta que homogenice. Centrifugar a 14000 rpm durante 10 min y nuevamente conservar el sobrenadante. Agregar 60 µl de Acetato de Sodio 3M y 650 µl de Isopropanol al 100%, frio e incubar a -20°C por dos horas (puede quedar toda la noche).

Lavado y resuspensión

Centrifugar a 14000 rpm durante 10 min y conservar el pellet. Agregar 200 µl de etanol al 80% y mezclar por cerca de un minuto. Refrigerar por media hora.

Centrifugar a 14000 rpm durante 5 minutos y conservar el pellet, secar a menos de 40°C por al menos una hora. Por ultimo resuspender el pellet con 50 µl de agua destilada. Se puede calentar unos minutos hasta que se disuelva el pellet y vortexear para mezclar. Conservar en refrigeración.

ANEXO II. Equilibrio de Hardy-Weinberg por locus por localidad e índice Fis calculado por el método de Weir y Cockerham (W&C). Los loci que presentan una desviación significativa se muestran en negritas.

Locus	Ch		Ce		Ap		Sl		Ma		Ta		Tb		Si	
	p	W&C	p	W&C	p	W&C	p	W&C	p	W&C	p	W&C	p	W&C	p	W&C
Mce3	0.1446	0.1447	0.0013	0.1667	0.0737	0.2135	0.3117	0.0357	0.0514	0.1290	0.0000	0.2590	0.0075	0.2086	0.4015	-0.0618
Mce4	0.7794	0.0263	0.0641	0.0706	0.2570	0.1397	0.3742	0.0526	0.5827	-0.0200	0.0397	0.1719	0.7258	0.0413	0.8962	0.0909
Mce6	0.1871	0.0471	0.1802	0.0861	0.2582	0.1088	0.1556	0.2174	0.9562	0.0016	0.1471	0.1177	0.0004	0.3063	0.3115	-0.0028
Mce7	0.1582	0.1007	0.0597	0.0571	0.0416	0.2329	0.9980	-0.0946	0.1487	-0.0035	0.7086	0.0492	0.0661	0.2117	0.0236	0.0986
Mce8	0.2778	-0.0876	0.1096	0.1544	0.0418	0.3932	0.9775	-0.1912	0.2250	0.0940	0.8617	-0.0826	0.5230	0.2444	0.2544	0.0349
Mce10	0.3047	0.1383	0.0146	0.1945	0.8546	-0.1136	0.0741	0.3032	0.1218	0.1247	0.0010	0.3362	0.0080	0.1907	0.4130	0.0226
Mce11	0.6835	-0.0168	0.0066	0.2846	0.2058	-0.0460	0.3858	0.2117	0.1444	0.1532	0.0406	0.1733	0.1731	0.0609	0.4886	-0.1892
Mce14	0.0011	0.2948	0.0000	0.4897	0.0864	0.2033	1.0000	-0.1429	0.0002	0.3082	0.0000	0.3289	0.2982	0.0381	0.0001	0.4196
Mce25	0.0002	0.3946	0.2588	0.1427	0.1742	0.2287	0.1653	0.2703	0.0000	0.4953	0.0000	0.3296	0.0048	0.2514	0.0099	0.3010
Mce27	0.9138	-0.1011	0.2820	-0.0709	0.2022	0.2432	0.7449	0.0382	0.4421	0.0167	0.7468	0.0512	0.3437	0.1077	0.5781	0.0093
Total	0.0005		0.0000		0.0079		0.4982		0.0000		0.0000		0.0000		0.0007	

Locus	Mz		Cu	
	p	W&C	p	W&C
Mce3	0.0000	0.4353	0.0000	0.4646
Mce4	0.0000	0.0664	0.0000	0.3477
Mce6	0.4722	0.0244	0.0638	-0.1038
Mce7	0.0000	0.2958	0.0000	0.2283
Mce8	0.1183	-0.2932	0.0430	0.2888
Mce10	0.0000	0.3774	0.0000	0.4884
Mce11	0.6423	0.0743	0.3606	0.0866
Mce14	0.0123	0.2256	1.0000	-0.0925
Mce25	0.0000	0.4540	0.0000	0.5252
Mce27	0.9321	-0.0766	0.2593	-0.1186
Total	0.0000		0.0000	

ANEXO III. Distribuciones de frecuencias alélicas por locus por localidad.

