



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

"GENÓMICA POBLACIONAL DEL ABULÓN  
AMARILLO (*Haliotis corrugata*) EN LA COSTA  
OCCIDENTAL DE BAJA CALIFORNIA"

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
(Orientación Biología Marina)

Presenta

**Jorge Alberto Mares Mayagoitia**

La Paz, Baja California Sur, junio de 2019

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 11:20 horas del día 13 del mes de junio del 2019, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**"Genómica poblacional del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) en la costa Occidental de Baja California"**

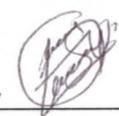
Presentada por el alumno:

**Jorge Alberto Mares Mayagoitia**

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Biología Marina**

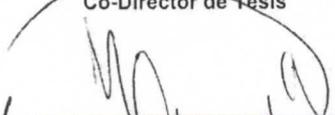
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

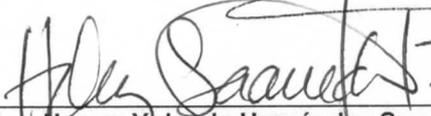
### LA COMISIÓN REVISORA

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez  
Co-Director de Tesis

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez  
Co-Director de Tesis

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Ricardo Pérez Enriquez  
Co-Tutor

  
\_\_\_\_\_  
Dr. José Luis Gutiérrez González  
Co-Tutor

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra,  
Directora de Estudios de Posgrado y  
Formación de Recursos Humanos

## **Conformación de Comités**

### **Comité Tutorial**

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez  
CONACyT - Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.  
Co-Director de tesis

Dr. Juan Antonio de Anda Montañez  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.  
Co-Director de tesis

Dr. Ricardo Pérez Enríquez  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.  
Co-tutor

Dr. José Luis Gutiérrez González  
Instituto Nacional de Acuicultura y Pesca  
Co-tutor

### **Comité Revisor de Tesis**

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez  
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez  
Dr. Ricardo Pérez Enríquez  
Dr. José Luis Gutiérrez González

### **Jurado de Examen**

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez  
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez  
Dr. Ricardo Pérez Enríquez

### **Suplente**

Dr. José Luis Gutiérrez González

## Resumen

La apropiada delimitación de unidades poblacionales (stocks) es una de las piedras angulares en la gestión pesquera. Sin embargo, la definición de tales límites aun es poco conocida, así como el papel que juegan las adaptaciones locales en los recursos pesqueros. Especies marinas comercialmente importantes muestran patrones complejos de estructura espacial y han indicado la relevancia de la selección natural, identificando adaptaciones locales relacionadas con la heterogeneidad y/o gradientes ambientales. Además, se ha sugerido que los grupos con adaptaciones locales juegan un papel fundamental en la productividad y la capacidad de recuperación de las poblaciones. El abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) es un recurso pesquero en la costa occidental de la península de Baja California. Si bien esta pesquería se encuentra con tendencia a la recuperación, aún es necesario aclarar las unidades poblacionales y/o grupos potenciales con adaptaciones locales del recurso. El objetivo de este trabajo fue identificar la estructura genómica-poblacional para dilucidar el número de poblaciones y grupos potenciales con adaptaciones y brindar mayor soporte a las medidas de manejo espacial en función de sus poblaciones. Se obtuvieron 147 muestras de 10 localidades de las cuatro zonas administrativas, logrando inferir sobre la estructura poblacional neutral y adaptativa. Se obtuvieron 1,996 SNPs en total, de los cuales 1,796 fueron *loci* neutrales y 10 *loci* candidatos a *outliers*. En este sentido, la estructura poblacional neutral presentó indicios de diferenciación genética entre Isla Guadalupe con respecto del resto de localidades costeras de la Península de Baja California (PBC). Dentro de la PBC se observó un gradiente latitudinal de norte a sur con aparentemente dos grupos y una zona de mezcla en la región de Punta Eugenia. La estructura poblacional con marcadores *outliers* presentó dos grupos con potencial adaptativo cuya zona de transición es entre Punta Eugenia e Isla Cedros: norte a partir de Isla Cedros incluyendo las localidades de Isla Guadalupe, Faro San José e Isla San Jerónimo, y sur a partir de Punta Eugenia abarcando las localidades de Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico probablemente debido a características ambientales particulares de los sitios de muestreo. Tanto la estructura genómico-poblacional neutral como adaptativa no coincidieron con las zonas administrativas de la pesquería del recurso.

**Palabras clave:** SNPs, genómica poblacional, ddRAD-seq, adaptaciones locales, pesquería.

---

Vo.Bo  
Dr. Fausto Valenzuela  
Quiñonez  
Co-Director de Tesis

---

Vo.Bo  
Dr. Juan Antonio de Anda  
Montañez  
Co-Director de Tesis

## Summary

The correct definition of population units (stocks) is one of the cornerstones of fisheries management. However, such definition of population boundaries is not well understood, as is the role played by local adaptations in fishery resources. Marine fisheries resources show complex patterns of spatial structure and have denoted the relevance of natural selection, identifying local adaptations related to heterogeneity and/or environmental gradients. Also, it has been suggested that groups with local adaptations potentially play a fundamental role in the productivity and resilience of populations. The pink abalone (*Haliotis corrugata*) is a fishing resource on the western coast of the peninsula of Baja California. Although this fishery is diminished with trend to recovery, still it needs to clarify the population units and/or potential groups with local adaptations of the resource. The objective of this work was to identify the genomic-population structure to elucidate the number of populations and potential groups with local adaptations to provide a better understanding to support spatial management measures based on their populations. In this study, we obtained 147 samples from 10 localities within the four administrative zones and estimated the neutral and adaptive population structure. We obtained 1,996 global SNPs from which 1,796 were neutral *loci* and 10 *loci outliers*. In this context, neutral population structure showed genetic differentiation between Guadalupe Island and the coastal locations from the Baja California Península (BCP). We observed a north to south latitudinal gradient within the BCP integrating two groups and an admixture zone in the Punta Eugenia region. *Outlier* structure was delimited for two adaptive potential groups: North group from Isla Cedros to Isla Guadalupe, Faro San José and Isla San Jerónimo, and South group from Punta Eugenia to Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana and San Juanico. The adaptive potential groups pattern is probably for the specific environmental characteristics from the sampling locations. Both neutral and *outlier* genomic population structures did not match the administrative zones of the pink abalone fishery.

**Keywords:** SNPs, population genomics, ddRAD-seq, local adaptation, fisheries.

---

Vo.Bo  
Dr. Fausto Valenzuela  
Quiñonez  
Co-Director de Tesis

---

Vo.Bo  
Dr. Juan Antonio de Anda  
Montañez  
Co-Director de Tesis

**Dedicatoria**

A los maestros que han sido parte de mi formación académica y humana.

A mi compañero por enseñarme a querer tanto y bonito.

A mi familia por ser mis maestros de vida, todo momento a su lado es un continuo  
y bello aprendizaje.

A mi abuelita Esther, cuyas enseñanzas han trascendido el tiempo.

## **Agradecimientos**

Al Centro de Investigaciones biológicas del Noroeste, S.C. como institución receptora de los estudios de Posgrado y al CONACyT por la beca otorgada (608503).

Al CONACyT por el financiamiento al proyecto PDCPN-2015-1743 "Un nuevo enfoque para la recuperación, inspección y vigilancia de recursos sobreexplotados de alto valor comercial, caso de estudio: La pesquería de abulón".

A mi comité tutorial: Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez, Dr. Juan Antonio de Anda Montañez, Dr. Ricardo Pérez Enríquez y al Dr. José Luis Gutiérrez González por todo su apoyo, dedicación, paciencia y atenciones.

A la Lic. Osvelia Ibarra Morales, Lic. Leticia González Rubio Rivera, Tania Núñez Valdez y al Lic. Horacio Sandoval Gómez de Posgrado por sus gentiles atenciones y consejos sobre todo proceso administrativo durante mi estancia en la Maestría.

A la Federación Regional de Sociedades Cooperativas de la Industria Pesquera de Baja California, F.C.L.: "Abuloneros y Langosteros", "Pescadores Nacionales de Abulón", "La Purísima", "Buzos y Pescadores", "Emancipación", "Leyes de Reforma" y "Progreso"; así como a las Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera "Ensenada" y "Puerto Chale" por su paciencia, disposición y apoyo tanto logístico como físico durante los muestreos del trabajo de campo.

A la M.C. Delia Rojas Posadas, la Dra. Crisalejandra Rivera y a la Dra. Norma Hernández Saavedra por el espacio del laboratorio y apoyo durante nuestra estancia en el Laboratorio de Genética Molecular.

A la M.C. Gabriela Mendoza Carrión, M.C. Víctor López Flores y M.C. Karina Alejandra Vázquez por su constante apoyo a lo largo del sinuoso camino del trabajo en laboratorio. A mis amigos y confidentes durante el viaje de la Maestría: Cami, Pau, Paulo, Salwa, Abulonsin, Cecy y Ale. Gracias por todas las aventuras.

A Javier y Mary Paz Espinoza, gracias por recibirme y convertirse en mi familia paceña.

A mi amada familia: mis padres Adriana y Jorge, y mi hermano Mario por su amor y constante palabras de apoyo.

## Contenido

<b>Resumen</b> .....	i
<b>Summary</b> .....	ii
<b>Dedicatoria</b> .....	iii
<b>Agradecimientos</b> .....	iv
<b>Lista de figuras</b> .....	vii
<b>Lista de tablas</b> .....	ix
<b>Abreviaturas</b> .....	xi
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	4
2.1 Secuenciación masiva y SNPs .....	4
2.2 Genómica poblacional .....	5
2.3 Estudios genómicos poblaciones en especies de importancia comercial .....	6
2.4 Sujeto de estudio, el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) .....	8
2.4.1 Biología .....	8
2.4.2 Pesquería de Abulón en Baja California .....	9
2.4.3 Manejo .....	9
2.4.4 Características oceanográficas de la costa occidental de la península de Baja California como hábitat del abulón amarillo ( <i>H. corrugata</i> ) .....	10
2.4.5 Problemática del recurso abulón en la Península de Baja California con base en estudios genéticos. ....	11
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	13
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	14
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	15
5.1 Objetivos general .....	15
5.2 Objetivos específicos .....	15
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	16
6.1 Área de estudio .....	16
6.2 Recolección de muestras .....	16
6.3 Análisis molecular .....	18
6.3.1 Extracción de ADN .....	18
6.3.2 Elaboración de librerías genómicas con el método <i>ddRAD-Seq</i> . ....	18
6.4 Análisis bioinformático .....	22

6.5 Prueba exploratoria de estructuración poblacional .....	23
6.6 Detección de SNPs bajo selección .....	24
6.7 Marcadores en Equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) .....	25
6.8 Análisis de Diversidad.....	25
6.9 Diferenciación poblacional y agrupamiento .....	26
<b>7. RESULTADOS .....</b>	<b>29</b>
7.1 Parametrización y genotipificación.....	29
7.2 Detección de SNPs bajo selección .....	34
7.2.1 Detección de <i>outliers</i> mediante Bayescan.....	34
7.2.2 Detección de <i>outliers</i> con Arlequin .....	34
7.3 Marcadores en equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) .....	36
7.4 Diversidad genética .....	36
7.5 Diferenciación poblacional y agrupamiento .....	38
7.5.1 Análisis global.....	38
7.5.2 Análisis de Marcadores Neutrales .....	42
7.5.3 Análisis de marcadores <i>outliers</i> .....	48
<b>8. DISCUSIÓN .....</b>	<b>58</b>
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>69</b>
<b>10. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>70</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>83</b>

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Áreas administrativas de manejo del recurso abulón (números romanos) y áreas de concesión de las sociedades cooperativas en las localidades de muestreo (polígonos). De norte a sur las localidades son: A) Isla San Jerónimo, B) Isla Guadalupe, C) Faro San José, D) Isla Cedros, E) Punta Eugenia, F) Isla Natividad, G) Bahía Tortugas, H) Bahía Asunción, I) La Bocana, J) San Juanico.	17
<b>Figura 2.</b> Detección de marcadores <i>outliers</i> , a la derecha de la marca $\log(\text{PO}) 0.6$ mediante el software Bayescan 2.0.	34
<b>Figura 3.</b> Marcadores bajo selección divergente se encuentran numerados por arriba del intervalo de 99% en color rojo y los marcadores por debajo del intervalo en color azul se encuentran bajo selección balanceadora.	35
<b>Figura 4.</b> Marcadores candidatos a selección ( <i>outliers</i> ) detectados en común entre los programas Bayescan y Arlequin.	35
<b>Figura 5.</b> Prueba no paramétrica para los valores de $H_E$ del abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) agrupados en tres: 1) Sur, localidades de San Juanico a Isla Natividad; 2) Norte, localidades de Isla Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José; 3) Isla Guadalupe.	37
<b>Figura 6.</b> Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) con un grupo de marcadores global de 1,796 <i>loci</i> con 60 componentes retenidos y 3 <i>eigenvalues</i> .	40
<b>Figura 7.</b> Análisis de agrupamiento ( <i>clusters</i> ) del abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) para el grupo de marcadores global de 1,796 <i>loci</i> . a) Número más probable de $K$ utilizando el método de Evanno (Evanno <i>et al.</i> , 2005) a partir del valor de delta $K$ y la probabilidad de pertenencia individual (eje vertical) para: b) dos grupos ( $K = 2$ ) y, c) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades.	41
<b>Figura 8.</b> Prueba Mantel de aislamiento por distancia para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) para el grupo de marcadores neutrales (1,733 <i>loci</i> ).	43
<b>Figura 9.</b> Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) con el grupo de marcadores neutral de 1,733 <i>loci</i> utilizando 40 componentes retenidos y 3 <i>eigenvalues</i> .	44
<b>Figura 10.</b> Análisis de agrupamiento ( <i>clusters</i> ) del abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) para el grupo de marcadores neutral de 1,733 <i>loci</i> . a) Número más probable de $K$ utilizando el método de Evanno (Evanno <i>et al.</i> , 2005) a partir del valor de delta $K$ y la probabilidad de pertenencia individual (eje vertical) para: a) dos grupos ( $K = 2$ ), y b) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades.	45
<b>Figura 11.</b> Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) con el grupo de marcadores <i>outliers</i> de 10 <i>loci</i> con 6 componentes retenidos y 2 <i>eigenvalues</i> .	50
<b>Figura 12.</b> Análisis de agrupamiento ( <i>clusters</i> ) del abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) para el grupo de marcadores <i>outliers</i> obtenidos por Bayescan v.2.0 de 10 <i>loci</i> . a) Número más probable de $K$ utilizando el método de Evanno (Evanno <i>et al.</i> , 2005) a partir del valor de delta $K$ y la probabilidad de pertenencia individual	

(eje vertical) para: a) dos grupos ( $K = 2$ ) y, b) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades..... 51

**Figura 13.** Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) con el grupo de marcadores outliers obtenido por Arlequin v.3.5 de 37 loci con 25 componentes retenidos 2 *eigenvalues*..... 53

**Figura 14.** Análisis de agrupamiento (*clusters*) del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) para el grupo de marcadores outliers obtenido por Arlequin v.3.5 de 37 loci. a) Número más probable de  $K$  utilizando el método de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) a partir del valor de delta  $K$  y la probabilidad de pertenencia individual (eje vertical) para: a) dos grupos ( $K = 2$ ) y, b) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades. .... 54

## Lista de tablas

<b>Tabla I.</b> Funciones de los componentes del pipeline de Stacks. ....	22
<b>Tabla II.</b> Tamaño de muestra por localidad y área administrativa.....	29
<b>Tabla III.</b> Obtención de sitios variantes o SNPs con diferentes valores del parámetro <b>-M</b> en el componente <code>denovo_map.pl</code> .....	30
<b>Tabla IV.</b> Filtro para la obtención de sitios variantes o SNPs con diferentes valores del parámetro <b>-p</b> para el parámetro <b>-M</b> 3 en el componente <code>populations</code> .....	31
<b>Tabla V.</b> Porcentaje de datos faltantes y cantidad de SNPs para distintos valores de <b>-p</b> .....	31
<b>Tabla VI.</b> Cantidad de individuos por localidad para tres porcentajes de datos faltantes. ....	32
<b>Tabla VII.</b> Individuos descartados a través de los filtros del proceso de genotipificación. ....	32
<b>Tabla VIII.</b> Tamaño de muestra final por localidad y área administrativa después de los filtros de genotipificación. ....	33
<b>Tabla IX.</b> Filtro para la obtención de sitios variantes o SNPs. La fila <b>Total</b> indica la combinación final de los parámetros utilizados en el módulo <b>populations</b> : <b>-M</b> = 3, <b>-p</b> = 9, <b>-r</b> = 0.8, <b>-min_maf</b> = 0.05 y <b>--write_single_snp</b> . ....	33
<b>Tabla X.</b> Valores promedio de Heterocigocidad esperada ( $H_E$ ) para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ) por localidad. ....	36
<b>Tabla XI.</b> Prueba de comparaciones pareadas de Wilcoxon asumiendo tres poblaciones del abulón amarillo ( <i>H. corrugata</i> ). ....	37
<b>Tabla XII.</b> Análisis comparativo de valores de $F_{ST}$ para el grupo de datos global usando 952 de 1,796 <i>loci</i> para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ). Debajo de la diagonal se muestran los valores de $F_{ST}$ y por encima de la diagonal los valores de $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas valores menores al alfa obtenido por la corrección secuencial de <i>Bonferroni</i> ( $\alpha = 0.0014$ ). ....	39
<b>Tabla XIII.</b> Análisis comparativo de valores de $F_{ST}$ para el grupo de marcadores neutrales usando 931 de 1,733 <i>loci</i> para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ). Debajo de la diagonal se muestran los valores de $F_{ST}$ y por encima de la diagonal los valores de $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas los valores menores al alfa obtenido por la corrección secuencial de <i>Bonferroni</i> ( $\alpha = 0.0012$ ). ....	42
<b>Tabla XIV.</b> Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) jerárquico para las cinco hipótesis de regionalización utilizando el grupo de marcadores neutrales con un total de 1,733 <i>loci</i> del abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ). ....	47
<b>Tabla XV.</b> Análisis comparativo de valores de $F_{ST}$ para el grupo de marcadores candidatos a selección ( <i>outliers</i> ) usando 6 de 10 <i>loci</i> obtenidos por el método Bayesiano para el abulón amarillo ( <i>Haliotis corrugata</i> ). Debajo de la diagonal se muestran los valores de $F_{ST}$ y por encima de la diagonal los valores de $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas los valores menores al alfa obtenido por la corrección secuencial de <i>Bonferroni</i> ( $\alpha = 0.0020$ ). ....	49

- Tabla XVI.** Análisis comparativo de valores de  $F_{ST}$  para el grupo de marcadores candidatos a selección (*outliers*) obtenidos por Arlequin v.3.5 usando 15 de 37 *loci* para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*). Debajo de la diagonal se muestran los valores de  $F_{ST}$  y por encima de la diagonal los valores de  $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas los valores menores al alfa obtenido por la corrección de *Bonferroni* ( $\alpha = 0.0023$ )..... 52
- Tabla XVII.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) jerárquico donde se probaron las cinco hipótesis de regionalización para el grupo de los 10 marcadores *outliers* compartidos entre los software Bayescan y Arlequin del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*)..... 56

**Abreviaturas**

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BA	Bahía Asunción
BT	Bahía Tortugas
CC	Corriente de California
ddRAD-seq	Doble digestión asociada a sitios de restricción
ADCP	Análisis discriminante de componentes principales
FSJ	Faro San José
$F_{st}$	Índice de fijación
IC	Isla Cedros
IG	Isla Guadalupe
IN	Isla Natividad
ISJ	Isla San Jerónimo
LB	La Bocana
PBC	Península de Baja California
PE	Punta Eugenia
SCC	Sistema de Corrientes de California
SJ	San Juanico
SNP	Nucleótido de un solo polimorfismo

## 1. INTRODUCCIÓN

El abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) es una de las especies de importancia comercial en la región cuyas medidas de manejo se basan únicamente en información biológica disponible, tales como época reproductiva (Ortíz-Quintanilla *et al.*, 1990) y tamaño de primera madurez (Sierra-Rodríguez *et al.*, 2006) sin considerar la parte genética.

Actualmente, los estudios en genética poblacional tradicional indican que no existe diferenciación genética para el abulón amarillo entre las localidades de su distribución a lo largo de la costa Occidental de la Península de Baja California y, por consiguiente, describe una estructura poblacional neutral panmíctica (Díaz-Viloria *et al.*, 2009; Munguía-Vega *et al.*, 2015), sin embargo, se desconoce el efecto que la presión del medio ambiente ejerce sobre dicho recurso, y por lo que, el presente estudio busca indagar en la estructura poblacional del recurso ampliando el tamaño de muestra, así como rango espacial de muestreo para identificar poblaciones potenciales y grupos específicos con potencial adaptativo (Sanford y Kelly, 2011), incorporando la genómica poblacional (Riginos *et al.*, 2016).

Los diversos tipos de estructuración poblacional se delimitan asociando las frecuencias alélicas geográficamente en el espacio (Frankham *et al.*, 2004) con base en el grado de aislamiento entre poblaciones potenciales, del mismo modo, es posible identificar grupos genéticos con potencial adaptativo a partir del análisis de marcadores moleculares sujetos a selección en los que intervienen presiones ambientales (Charlesworth *et al.*, 2003; Selkoe *et al.*, 2016). Para esto, es necesario especificar que una población es un conjunto de individuos de una especie que comparten características biológicas en un mismo espacio y tiempo, de tal forma que sus miembros pueden reproducirse potencialmente entre sí y solo

son evaluadas mediante marcadores moleculares neutrales (Waples y Gaggiotti, 2006).

Algunos tipos de estructuración poblacional que se presentan en el medio marino son: *panmixia*, la cual expone una sola población donde todos los miembros tienen la misma probabilidad de reproducirse entre sí (Als *et al.*, 2011; Beerli y Palczewski, 2010) como en el caso del abulón amarillo (Díaz-Viloria *et al.*, 2009; Munguía-Vega *et al.*, 2015), aislamiento por distancia donde la diferenciación genética está estrechamente relacionada con un gradiente latitudinal (Slatkin, 1993), aislamiento por ambiente en la que la diferenciación se asocia a diferencias ambientales (Sexton *et al.*, 2014; Wang y Bradburd, 2014), y parcheo genético caótico donde hay sobrelape en la reproducción entre generaciones y no se encuentra un patrón de estructuración genética aparente en el espacio (Selkoe *et al.*, 2010).

El principal elemento que propicia la formación de cualquier tipo de estructuración poblacional es el grado de diferenciación de las frecuencias alélicas entre las poblaciones, mejor conocido como conectividad genética (Lowe y Allendorf, 2010; Selkoe *et al.*, 2016). En el medio marino la influencia de factores como las corrientes, la alta migración de organismos y la dispersión larvaria tienden a nivelar de manera homogénea las frecuencias alélicas, dificultando la identificación de estructura poblacional distinta a la panmixia (Hedgecock *et al.*, 2007). Las técnicas de secuenciación masiva y el uso de marcadores moleculares de tipo SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*; Morin *et al.*, 2004) son las herramientas con más auge en estudios de genómica poblacional debido a su capacidad de obtener miles de marcadores moleculares de naturaleza neutral y posibilita la detección de marcadores *outliers* o candidatos a selección (Stinchcombe y Hoekstra, 2008), favoreciendo una mejor comprensión del efecto de las fuerzas evolutivas en la formación de los distintos tipos de estructuración poblacional (Luikart *et al.*, 2003).

En este contexto, el desarrollo de la genómica ha permitido delimitar estructuración poblacional neutral a pesar de la alta conectividad genética presente en el medio marino, favoreciendo estrategias de conservación (Jenkins y Stevens, 2018; Palumbi, 2003) y manejo de pesquerías (Hawkins *et al.*, 2016), así como la identificación de grupos genéticos con adaptaciones locales asociados a variables ambientales (Sandoval-Castillo *et al.*, 2018).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Secuenciación masiva y SNPs

Las técnicas de secuenciación masiva en combinación con el uso de técnicas de reducción de la complejidad del genoma mediante enzimas de restricción comúnmente llamadas librerías de baja representación, han facilitado el descubrimiento y la genotipificación de miles de marcadores moleculares en decenas de cientos de individuos en una sola línea de secuenciación (Davey *et al.*, 2011).

Los marcadores moleculares empleados mayormente por estas técnicas son conocidos como polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs, por sus siglas en inglés) y se identifican como cambios específicos de un nucleótido en la secuencia de DNA genómico (Morin *et al.*, 2004; Vignal *et al.*, 2002). En general, los SNPs son bi-alélicos y se encuentran de manera abundante a lo largo del genoma en regiones codificantes y no codificantes. Anteriormente, la aplicación de SNPs se encontraba restringido a especies modelo, sin embargo, las técnicas de secuenciación masiva han permitido que estos también puedan ser aplicados en especies no modelo sin genoma de referencia (Seeb *et al.*, 2011).

Específicamente para el caso de las especies no modelo, los métodos de digestión asociada a enzimas de restricción (RAD-seq), han optimizado la identificación y genotipificación de miles de SNPs a lo largo del genoma (Seeb *et al.*, 2011). Particularmente, el método de doble digestión asociada a sitios de restricción (ddRAD-seq) ha permitido, mediante la incorporación de un adaptador individual (*barcodes*) y un *index*, aumentar la capacidad de secuenciar más individuos conservando una baja tasa de error de genotipificación (Peterson *et al.*, 2012).

Además, en comparación con otros marcadores moleculares tradicionales como los microsatélites y las alozimas, los SNPs presentan una menor tasa de mutación y presentan una mayor capacidad de identificar marcadores candidatos a selección (Schlöter, 2004). Debido a esto, se posicionan como los marcadores moleculares más utilizados en estudios sobre la variación genética entre y dentro de las poblaciones silvestres, así como en la influencia del medio ambiente en adaptaciones locales (Stinchcombe y Hoekstra, 2008).

## 2.2 Genómica poblacional

La genómica poblacional se define como el estudio a gran escala de *loci* o genes distribuidos a lo largo del genoma y su relación con los procesos evolutivos en las poblaciones silvestres (Luikart *et al.*, 2003). En este sentido, es posible separar efectos de amplitud del genoma de aquellos efectos específicos del *locus* para evaluar su impacto en la variación genética de las poblaciones (Black *et al.*, 2001).

En primera instancia, los efectos de amplitud de genoma son estudiados a partir de marcadores moleculares neutrales con el fin de dilucidar principalmente aspectos demográficos de las poblaciones. Algunos parámetros que se estiman con este tipo de marcadores son las tasas de migración ( $m$ ), el tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) y deriva génica (Lowe *et al.*, 2017; Pazmiño *et al.*, 2017; Stinchcombe y Hoekstra, 2008). En contraparte, los efectos específicos de *locus* profundizan en el estudio de la genética adaptativa mediante la obtención de marcadores candidatos a selección y con ello evaluar la presión ambiental sobre las poblaciones (Nielsen *et al.*, 2009; Stapley *et al.*, 2010).

En los últimos años, son varios los estudios a lo largo del mundo que se han valido de la genómica poblacional como herramienta para identificar unidades poblacionales con marcadores neutrales y adaptaciones locales a través de los marcadores candidatos a selección, los cuales han revelado la influencia de factores ambientales en la estructura genómico-poblacional de especies marinas como el bacalao del Océano Atlántico (*Gadus morhua*; Bradbury *et al.*, 2010), el arenque del Atlántico (*Clupea harengus*; Limborg *et al.*, 2012), el salmón del Pacífico Norte (*Oncorhynchus mykiss*; Hale *et al.*, 2013), el mujol o lisa del Este de Australia (*Mugil cephalus*; Krück *et al.*, 2013), la merluza del Atlántico y Mar Mediterráneo (*Merluccius merluccius*; Milano *et al.*, 2014) el pez del Mar Báltico *Gasterosteus aculeatus* (Guo *et al.*, 2015), el copépodo planctónico del Atlántico Norte (*Centropages typicus*; Blanco-Bercial y Bucklin, 2016), el pez *Symphodus tinca* del Mar Mediterráneo (Carreras *et al.*, 2017), el pez *Sebastiscus marmoratus* de las costas de China (Xu *et al.*, 2017) y la perca dorada de agua dulce de Australia (*Macquaria ambigua*; Attard *et al.*, 2018; Beheregaray *et al.*, 2017).

### 2.3 Estudios genómicos poblaciones en especies de importancia comercial

Una de las principales repercusiones del uso de marcadores moleculares SNPs se ha dado en torno al manejo de especies marinas de importancia comercial, pues se ha observado una discrepancia con las áreas dispuestas para el aprovechamiento de los recursos pesqueros cuando se utiliza el grupo de marcadores candidatos a selección como alternativa para identificar la estructura genómico-poblacional (Benestan *et al.*, 2016; Berg *et al.*, 2017; Drinan *et al.*, 2018; Grant *et al.*, 2012; Mullins *et al.*, 2018; Sandoval-Castillo *et al.*, 2018; Wyngaarden *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2018).

Por mencionar algunos ejemplos, en el caso de la pesquería de la langosta americana (*Homarus americanus*), que cuenta con 41 áreas administrativas localizadas en la costa del Océano Atlántico en la frontera de Estados Unidos

(EEUU) con Canadá, Benestan *et al.* (2015; 2016) encontró una discrepancia entre dichas áreas y la estructura genómico-poblacional. Además se identificó que la estructura genómico poblacional se relacionaba con el gradiente latitudinal de temperatura a lo largo de la costa, y con ello se diferenciaban significativamente dos grupos específicos, uno asociado a temperaturas frías en las áreas del norte y otro a temperaturas cálidas en las áreas del sur de su distribución.

Por su parte, Sandoval-Castillo *et al.* (2018) realizó un estudio similar con el abulón verde (*Haliotis laevis*) en la costa sur de Australia donde la pesquería cuenta con ocho áreas administrativas, localizadas dentro de cuatro regiones ambientales que categorizó con 14 variables oceanográficas, y delimitó cinco grupos genéticos relacionados con las variaciones de oxígeno y temperatura, variables que fueron consistentes en mayor medida con las regiones ambientales que con las áreas administrativas.

A esta asociación entre el ambiente y el genotipo de grupos específicos de individuos determinada por marcadores candidatos a selección se le conoce como adaptaciones locales y pueden resultar en la diferenciación morfológica o fisiológica entre los grupos, afectando en su supervivencia (Sanford y Kelly, 2011; Savolainen *et al.*, 2013). Por lo tanto, es indispensable identificar y dar seguimiento a dichas adaptaciones locales ante la presión que ejerce el cambio climático sobre la estructura poblacional en el transcurso del tiempo (Young *et al.*, 2017) y sobre todo en relación con la temperatura (Bradbury *et al.*, 2010).

Por último, una de las aplicaciones de la genómica en el manejo de los recursos marinos es la trazabilidad, que consiste en la correcta asignación de individuos en el espacio y que ha sido efectiva en especies marinas de importancia comercial como el salmón (*Oncorhynchus mykiss*) en el Pacífico Norte, donde se asignaron individuos a dos poblaciones, una residente y una migratoria con base en

secuencias asociadas a la capacidad de osmorregulación de la especie (Hale *et al.*, 2013).

Como resultado, la implementación de los marcadores candidatos a selección y una mejor comprensión de las adaptaciones locales favorecerán el desarrollo del campo de la trazabilidad y su aplicación en el manejo de los recursos pesqueros (Bernatchez *et al.*, 2017).

## 2.4 Sujeto de estudio, el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*)

### 2.4.1 Biología

El abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) es un molusco bentónico que presenta una etapa larvaria en su ciclo de vida con una duración de tres hasta un máximo de 17 días y culmina con el asentamiento de la larva trocófora en el fondo marino, la especie se distribuye batimétricamente desde la bajamar de 5 m a 25 m de profundidad (Leighton, 1974, 2000; Ogawa *et al.*, 1992).

Su distribución es discontinua en parches a lo largo de la costa occidental de la península de Baja California desde Isla Margarita en Baja California Sur, México hasta Punta Concepción en California, EUA (León-Carballo y Muciño-Díaz, 1996; Ponce-Díaz *et al.*, 1998).

Se le encuentra en hábitats rocosos y asociados a grandes extensiones de bancos de macroalgas de los géneros *Macrocystis* spp. y *Eisenia* spp., las cuales junto a las diatomeas bentónicas constituyen la principal fuente de su dieta de acuerdo a análisis de contenido estomacal e isótopos estables (Aguilar-Rosas y Aguilar-Rosas, 1993; Guzmán de Proo *et al.*, 1972; Hernández-Carmona *et al.*, 1989; Vega-García *et al.*, 2015).

#### 2.4.2 Pesquería de Abulón en Baja California

Históricamente, las capturas del abulón se mantenían por arriba de las mil toneladas anualmente y el abulón amarillo representó entre el 70-80% de las capturas totales de la pesquería hasta finales de la década de 1970 cuando se observó un declive en sus densidades, y el abulón azul ocupó su lugar como la especie más abundante aportando aproximadamente el 70% de las capturas (Doi *et al.*, 1977; Guzmán del Prío, 1992; Guzmán del Prío y Borges-Souza, 2016; Morales-Bojórquez *et al.*, 2008; Navarro-González *et al.*, 2015; Ramade-Villanueva *et al.*, 1998; Rodríguez-Valencia *et al.*, 2004).

Actualmente el abulón amarillo continua siendo un importante recurso pesquero, en conjunto con el abulón azul representan el 98% del cual el abulón amarillo representa el 30% aproximadamente en la región de la Península de Baja California. Sin embargo, el estatus de la pesquería se considera en deterioro con tendencia a la recuperación presentando capturas anuales menores a las 300 toneladas (Compeán-Jiménez *et al.*, 2006; DOF, 2018).

#### 2.4.3 Manejo

Las medidas de manejo vigentes establecen cuatro zonas administrativas para su manejo dispuestas a lo largo de la costa occidental de la Península de Baja California, cada zona cuenta con tallas mínima de captura, cuotas y vedas específicas con base en características biológicas y reproductivas. Dichas zonas administrativas son: I) Isla Coronados, B.C. a Isla Cedros, B.C.; II) Punta Eugenia, B.C.S. a Bahía Asunción, B.C.S.; III) Bahía Asunción, B.C.S. a Punta Abreojos B.C.S.; IV) Punta Abreojos B.C.S. a Isla Margarita, B.C.S. (DOF, 1993; Prince y Guzmán del Prío, 1993; Ramade-Villanueva *et al.*, 1998).

Dentro de cada zona administrativa laboran varias Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera, las cuales pertenecen a la Federación de Sociedades Cooperativas de Baja California (FEDECOOP), y cada una dispone de una concesión espacial a la cual se le determina una cuota de captura para las áreas de pesca concesionadas (McCay *et al.*, 2014).

#### 2.4.4 Características oceanográficas de la costa occidental de la península de Baja California como hábitat del abulón amarillo (*H. corrugata*)

Uno de los principales factores oceanográficos que favorecen la conectividad genética en organismos bentónicos sésiles o semi-sésiles de ciclo de vida con una etapa larvaria (Hedgecock *et al.*, 2007) son las corrientes marinas (Frankham *et al.*, 2004; Selkoe *et al.*, 2016).

La costa occidental de la península de Baja California se encuentra bajo la influencia del Sistema de Corrientes de California (SCC), el cual se compone de la Corriente de California (CC) que corre de norte a sur durante todo el año, una estrecha contracorriente dentro de la Corriente de California durante el otoño e invierno y una contra corriente profunda que acarrea aguas del Pacífico ecuatorial hacia el norte (Amador-Buenrostro *et al.*, 1995; Durazo, 2015; Lynn y Simpson, 1987).

Asimismo, el medio marino de la península de Baja California es ambientalmente heterogéneo en cuanto a zonas de agregación de productividad primaria, temperaturas templadas o semi-templadas y surgencias constantes a lo largo del año (Cervantes-Duarte *et al.*, 2015; Fernández-Eguiarte *et al.*, 1993; Zaytsev *et al.*, 2003). Estas características han facilitado la delimitación de diversos Centros de Actividad Biológica (BACs) tales como: 1) Punta Baja al norte en Baja California; 2) Punta Eugenia al centro; y 3) Golfo de Ulloa entre Punta Eugenia y Bahía

Magdalena; todos localizados a lo largo de la península de Baja California, zona que forma parte de la distribución del abulón amarillo (Lluch-Belda *et al.*, 2000).

#### 2.4.5 Problemática del recurso abulón en la Península de Baja California con base en estudios genéticos.

En general, los estudios en genética poblacional realizados en la costa Pacífico de la Península de Baja California, han sugerido un alto flujo genético y baja diferenciación poblacional a corta y mediana escala empleando marcadores neutrales para el abulón amarillo (Díaz-Viloria *et al.*, 2009; Munguía *et al.*, 2015), el abulón azul *Haliotis fulgens* (Gutiérrez-González, 2007), el abulón negro *Haliotis cracherodii* (Hamm y Burton, 2000) y otras especies marinas de importancia pesquera como el cangrejo *Pachygrapsus crassipes* (Cassone y Boulding, 2006) y la langosta roja de California *Panulirus interruptus* (Pérez-Enríquez *et al.*, 2001).

En el caso del abulón amarillo, los estudios realizados por Díaz-Viloria *et al.* (2009) y Munguía-Vega *et al.* (2015) han demostrado una separación de dos grupos mediante microsatélites, donde un grupo corresponde a las costas de California, EEUU y el otro a la Península de Baja California derivado de un proceso de aislamiento por distancia. Por otro lado, ambos estudios sugieren una débil diferenciación poblacional a media escala en las localidades de muestreo al centro de la Península de Baja California.

Estos resultados contrastan con un estudio a menor escala realizado previamente por Del Río-Portilla y González-Avilés (2001), donde se encontró diferenciación entre varios sitios de muestreo en Isla Cedros utilizando alozimas, las cuales a diferencia de los microsatélites son marcadores moleculares potencialmente sujetos a la selección natural (Schlötterer, 2004) y con ello elevan su nivel de diferenciación entre los sitios de muestreo.

Sin embargo, a pesar de la discrepancia entre los resultados obtenidos con marcadores microsatélites y aloenzimas, actualmente el abulón amarillo se describe como una sola población panmítica en la costa occidental de la Península de Baja California a partir del uso de marcadores moleculares neutrales por medio de la genética poblacional tradicional. Por lo tanto, los SNPs y las técnicas de secuenciación masiva permitirán profundizar en la detección del grado de diferenciación genética neutral en una especie con alto flujo génico como el abulón amarillo, así como la presencia de grupos de individuos con valor adaptativo a causa de la heterogeneidad ambiental (Attard *et al.*, 2018; Limborg *et al.*, 2012).

El presente estudio describe la estructura genómico-poblacional del abulón amarillo a lo largo de la Península de Baja California, la cual será útil para brindar mayor soporte a las estrategias de manejo vigentes.

### 3. JUSTIFICACIÓN

La principal problemática que envuelve a la pesquería de abulón amarillo es la caída en sus capturas, lo cual ha impactado seriamente a las comunidades que utilizan a este recurso pesquero. Hay diversos factores que interactúan comprometiendo la productividad de(l) los stocks de abulón, entre ellos, los pasados niveles de explotación, la incidencia de enfermedades y el efecto del ambiente (hipoxia, cambio climático). El enfoque genómico poblacional con una amplia cobertura espacial puede coadyuvar a la implementación de medidas de manejo para la recuperación del recurso. La correcta definición de las unidades productivas permitirá establecer las fronteras y/o zonas de mezcla de stocks, información vital para una apropiada evaluación de stock con base en el modelo de biomasa vigente. Esto permitirá contar con cuotas de captura y puntos de referencia más precisos. Por otro lado, la identificación de grupos con adaptación local permitirá en un futuro comprender los potenciales efectos del cambio climático en este recurso perquero. Las evidencias de la estructuración genética espacial de este recurso aún son incipientes, por ello, este trabajo busca específicamente determinar el número de stocks de abulón amarillo en la Península de Baja California para que sean consideradas en las futuras evaluaciones de stock y contribuir a una mejor toma de decisiones.

#### **Preguntas Científicas**

¿Cuál es la estructura genómico poblacional del recurso abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) en la costa occidental de la península de Baja California?

¿Existe concordancia entre las zonas administrativas y las unidades biológicas del abulón amarillo?

#### **4. HIPÓTESIS**

Dado que ha sido posible identificar estructura poblacional y delimitar grupos genéticos con potencial adaptativo en especies marinas con alta conectividad genética mediante las técnicas de secuenciación masiva; entonces, se encontrará tanto una estructura poblacional distinta a panmixia como agrupaciones genéticas con potencial adaptativo del abulón amarillo que no coincidan con las áreas administrativas dispuestas para el manejo del recurso a lo largo de la costa occidental de Baja California.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivos general

Identificar la estructura genómica poblacional del abulón amarillo (*H. corrugata*) en la costa occidental de la península de Baja California.

### 5.2 Objetivos específicos

- Obtener e identificar marcadores moleculares tipo SNPs neutrales y candidatos a selección (*outliers*) para el abulón amarillo.
- Determinar el grado de diferenciación genética neutral entre las poblaciones del abulón amarillo.
- Determinar la estructura de los grupos con potencial valor adaptativo a partir de los *loci* candidatos a selección.

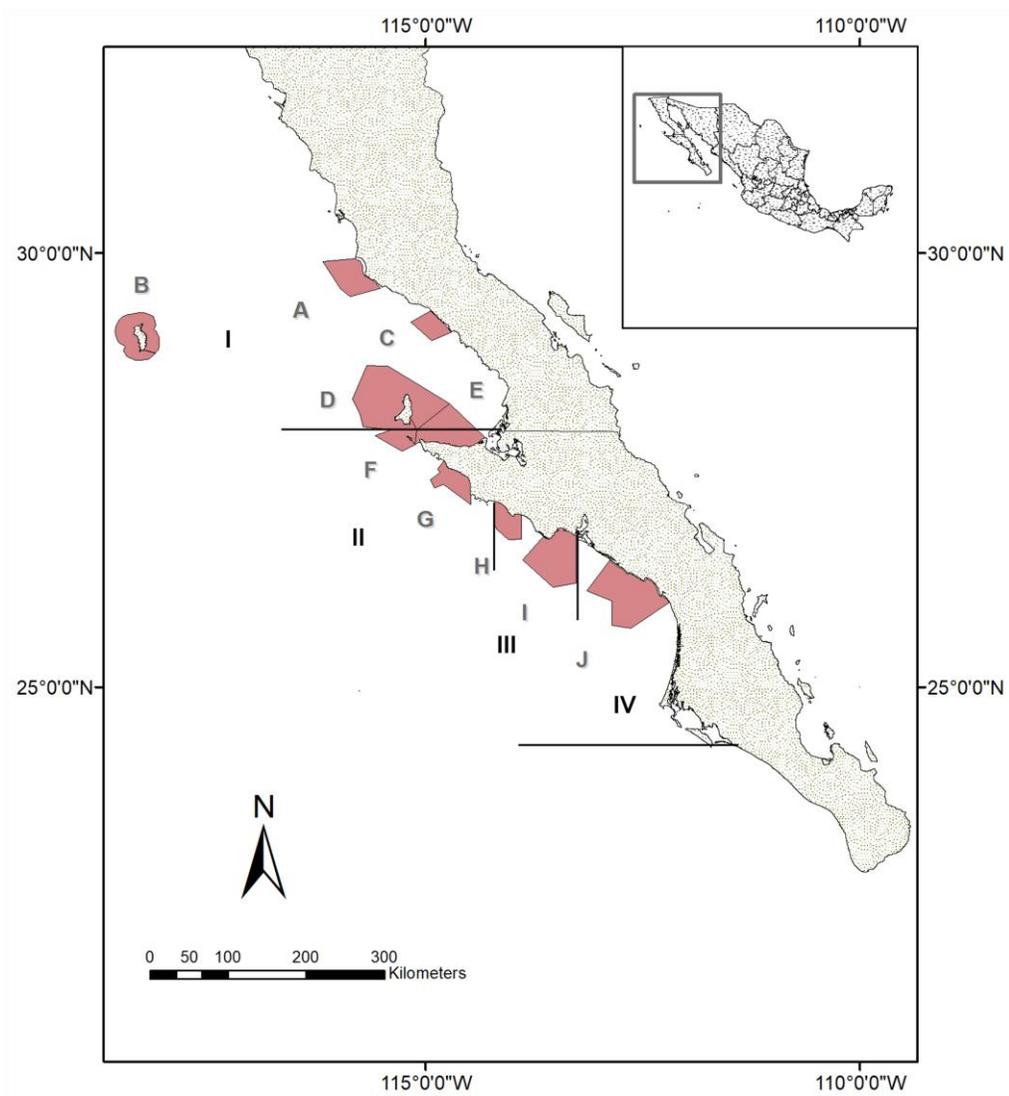
## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Área de estudio

La costa occidental de la Península de Baja California se encuentra en una zona que se caracteriza por estar bajo la influencia del Sistema de Corrientes de California (SCC). Dicho sistema de corrientes se compone de la Corriente de California con dirección de norte a sur y dos contracorrientes, una interna presente durante todo el año y otra profunda estacional (Lynn y Simpson, 1987). Además, esta área posee particularidades oceanográficas, tales como la convergencia entre aguas templadas y tropicales, y se le considera una zona de transición o frontera provincial en donde coinciden varios grupos taxonómicos marinos (Fernández *et al.*, 1993). Así mismo, se caracteriza por la presencia de variaciones de periodos cortos de circulación anticiclónica o giros oceánicos con intensificaciones o relajamientos de surgencias (Amador-Buenrostro *et al.*, 1995).

### 6.2 Recolección de muestras

El muestreo se realizó a lo largo de la península de Baja California en los meses de Julio 2017 y Mayo 2018, abarcando las localidades de La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Isla Natividad, Punta Eugenia, todas ellas en B.C.S. e Isla Cedros, Isla Guadalupe, Isla San Jerónimo y Faro San José en B.C. (Fig.1). Además, se incluyeron muestras obtenidas previamente de la localidad de San Juanico en 2006 (Díaz-Viloria, 2006). Se recolectaron muestras de tejido muscular de organismos de la pesquería comercial de abulón, proporcionados por pescadores pertenecientes a la Federación de Sociedades Cooperativas de Baja California (FEDECOOP), quienes obtuvieron el recurso mediante buceo semiautónomo. Se disectó tejido muscular y preservó en alcohol al 96% en viales etiquetados para su identificación, se realizaron cinco recambios de alcohol al 96% para asegurar la fijación del tejido.



**Figura 1.** Áreas administrativas de manejo del recurso abulón (números romanos) y áreas de concesión de las sociedades cooperativas en las localidades de muestreo (polígonos). De norte a sur las localidades son: A) Isla San Jerónimo, B) Isla Guadalupe, C) Faro San José, D) Isla Cedros, E) Punta Eugenia, F) Isla Natividad, G) Bahía Tortugas, H) Bahía Asunción, I) La Bocana, J) San Juanico.

## 6.3 Análisis molecular

### 6.3.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo por el método de cloroformo alcohol isoamílico (Sambrook *et al.*, 1989). El ADN se cuantificó en NanoDrop™ 2000 (Thermo scientific), y se evaluó la pureza de éste tomando en cuenta tanto la relación 260/280 (presencia de proteínas, fenol y otros contaminantes leídos a 280 nm), como la relación 260/230 (contaminantes como EDTA, carbohidratos y fenol leídos a 230 nm).

Asimismo, se midió la concentración de todas las muestras mediante cuantificación fluorométrica en Qubit™ (Thermo Fisher Scientific), siguiendo el protocolo del fabricante. Las muestras con concentraciones mayores al límite de detección del Qubit™ (e. q. > 100 ng/μL en NanoDrop™) se diluyeron en una proporción 1:5 (ADN:TE 0.1X) para su correcta cuantificación. Todas las muestras fueron disueltas a una concentración de 50 ng/μL. La integridad del ADN se evaluó por medio de electroforesis en geles de agarosa-Synergel™ (Diversified Biotech) al 1%, utilizando SYBER™ Gold (Thermo Fisher Scientific) como intercalante, un marcador de peso molecular 1KB Plus (Thermo Fisher Scientific) y fueron visualizados en un foto-documentador ChemiDoc™ (Bio-Rad).

### 6.3.2 Elaboración de librerías genómicas con el método *ddRAD-Seq*.

La elaboración de las librerías genómicas se llevó a cabo siguiendo la metodología de Secuenciación de ADN Asociada a Sitios de Restricción de Doble Digestión (por sus siglas en inglés: *ddRAD-Seq*) (Peterson *et al.*, 2012). En general, este método se realiza en cuatro etapas: 1) Doble digestión, 2) ligación de adaptadores únicos (*barcodes*), 3) selección de fragmentos y 4) incorporación de index.

### 6.3.2.1 Doble digestión

La etapa de la doble digestión consiste en la hidrólisis de ADN de alto peso molecular con dos enzimas de restricción, una de corte poco frecuente (EcoRI-HF; 5'-G|AATTC-3') y otra de corte frecuente (MspI; 5'-C|CGG-3'). Las reacciones de digestión se realizaron en un volumen de 30  $\mu$ L conteniendo 500 ng de ADN, 1x Buffer Cutsmart (NEB®), 10 U EcoRI-HF (NEB®), 10 U MspI (NEB®). Las reacciones se incubaron a temperatura ambiente durante toda la noche. Posteriormente, se purificaron con 1.5x de perlas magnéticas (*AMPure XP beads*; Beckman Coulter), se realizaron dos lavados usando 150  $\mu$ L con etanol al 70% en cada uno y finalmente el ADN se eluyó en 30  $\mu$ L utilizando TE (0.1x).

### 6.3.2.2 Ligación de adaptadores

Se ligaron adaptadores específicos que se unen a los extremos cohesivos resultantes de la doble digestión. Se ligaron adaptadores P1 los cuales contienen un *barcode* único para cada individuo (un set = 48 *barcodes*) complementario al sitio de restricción de la enzima EcoRI-HF y el adaptador común P2 complementario al sitio de restricción de la enzima MspI. Las reacciones de ligación se realizaron en un volumen de 40  $\mu$ L usando 1x Buffer T4 Ligasa (NEB®), 100 U de T4 DNA Ligasa (NEB®) y 2  $\mu$ M de cada adaptador P1 y P2. La digestión se dejó actuar durante toda la noche a temperatura ambiente. La reacción de ligación se detuvo incubando las muestras a una temperatura de 65° C por 10 minutos para inactivar la enzima. Se hizo una purificación con perlas magnéticas (*AMPure XP beads*; Beckman Coulter), en una proporción de 1.5x y el ADN se eluyó en 30  $\mu$ L de TE (0.1x).

Posteriormente, para evaluar la correcta ligación de los adaptadores se realizó una PCR1 a partir de los productos ligados y purificados. Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 12.5  $\mu$ L utilizando 1  $\mu$ L de ADN ligado, 1 X

GoTaq® ADN polimerasa (Promega), 0.8  $\mu$ M del cebador Illumina F (5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTCTTTCCCTACACGACG-3') y cebador Illumina R (5'-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATCGTGATGTGACTG GAGTTCAGACGTGTGC-3'). El PCR inició con una desnaturalización a 94° C por dos minutos, seguido de 20 ciclos de desnaturalización a 94° C por 30 segundos, un acoplamiento a 60° C por 30 segundos y una extensión a 72° C por 45 segundos. Los productos fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa-Synergel™ (Diversified Biotech) al 2%, utilizando SYBER™ Gold (Thermo Fisher Scientific) como intercalante y un marcador de peso molecular 1 KB Plus (Thermo Fisher Scientific) y fueron visualizados en un foto-documentador ChemiDoc™ (Bio-Rad). Nuevamente se midió la concentración de las muestras ligadas y purificadas mediante cuantificación fluorométrica Qubit™ (Thermo Fisher Scientific), siguiendo el protocolo del fabricante.

El ADN de todos los individuos marcados con un set de *barcodes* distintos se mezclaron en concentraciones equimolares para crear un *pool*. En este sentido, un *pool* consistió en 48 individuos. Cada *pool* fue concentrado con perlas magnéticas (*AMPure XP beads*; Beckman Coulter) en una proporción de 1.5x y finalmente eluidos en 30  $\mu$ L de TE (0.1x).

#### 6.3.2.3 Selección de Fragmentos

Se realizó la selección de fragmentos de cada *pool* mediante el protocolo del equipo Pippin Prep (Sage Science), debido al incremento en longitud de los fragmentos por agregar los adaptadores P1 y P2, el tamaño seleccionado fue de 376 pb  $\pm$  50 pb.

#### 6.3.2.4 Incorporación de index.

Los *pools* recuperados de la selección de fragmentos fueron enriquecidos y se adicionaron los adaptadores de Illumina mediante PCR. A partir de cada *pool* se llevaron a cabo ocho reacciones de PCR, cada reacción se llevó a cabo en un volumen final de 20  $\mu$ L con 3  $\mu$ L de ADN de cada *pool*, 1 X Buffer Phusion HF (NEB®), 0.4  $\mu$ M dNTPs, 0.5  $\mu$ M de cada cebador (cebador Illumina F y cebador Illumina R) y 0.5 U Taq Phusion DNA polimerasa (NEB®). El Programa de PCR consistió en una desnaturalización a 94° C por dos minutos, seguido de 10 ciclos de desnaturalización a 94° C por 30 segundos, un alineamiento a 60° C por 30 segundos y una extensión a 72° C por 45 segundos.

Es necesario resaltar, que mediante el cebador Illumina R se incluyó un *index* diferente (*Index1\_ATCACG*, *Index2\_CGATGT*, *Index6\_GCCAAT*, *Index9\_GATCAG*) para identificar cada uno de los cuatro *pools* que contienen un set de *barcodes* únicos, facilitando la identificación de las variantes de cada uno de los individuos. Las ocho reacciones de cada *pool* fueron concentradas con 1.5x de perlas magnéticas (*AMPure XP beads*; Beckman Coulter) y eluidos en 30  $\mu$ L de TE (0.1x).

Finalmente, se realizó una última electroforesis en gel de agarosa-Synergel™ (Diversified Biotech) al 2%, utilizando SYBER™ Gold (Thermo Fisher Scientific) como intercalante y un marcador de peso molecular 1 KB Plus (Thermo Fisher Scientific) y fueron visualizados en un foto-documentador ChemiDoc™ (Bio-Rad) para corroborar que el tamaño de los *pools* correspondieran al tamaño esperado (aproximadamente o menos de 500 pb). Una vez confirmado el tamaño esperado de cada *pool* se midió la concentración del ADN de cada uno mediante cuantificación fluorométrica con Qubit™ (Thermo Fisher Scientific). La librería final se formó al combinar dos *pools* con concentraciones equimolares y se purificaron con 1.5x perlas magnéticas (*AMPure XP beads*; Beckman Coulter). Las librerías

finales fueron secuenciadas usando el servicio de la compañía NovoGene© (Sacramento, California, Estados Unidos de América) en dos líneas de secuenciación Illumina HiSeqX, con lecturas pareadas de ~150 pb.

#### 6.4 Análisis bioinformático

Se utilizó el software STACKS v.2.0 (Catchen *et al.*, 2013b), cuyo *pipeline* incluyen el filtrado de calidad de secuencias crudas, *demultiplexado*, descubrimiento de SNPs y obtención de genotipos (Tabla I).

**Tabla I.** Funciones de los componentes del pipeline de Stacks.

Proceso	Función
<i>Process_radtags</i> :	<i>Demultiplexing</i> por individuos
<i>Ustacks</i>	Formación de stacks
<i>Cstacks</i>	Creación del catálogo de stacks
<i>Sstacks</i>	Comparación de stacks contra catálogo
<i>tsv2bam</i>	Transpone la matriz de stacks de muestras a <i>loci</i>
<i>Gstacks</i>	Ensambla y alinea secuencias, llama SNPs

En primer lugar, el programa *process\_radtags* se utilizó para *demultiplexar* las secuencias por individuo, remover nucleótidos no llamados de las secuencias (**-c**), así como eliminar aquellas con *barcodes* ambiguos (**-r**) y con calidad menor a 20 en escala *phred 33* (**-q**).

Al no contar con genoma de referencia se procedió a ensamblar *loci* putativos mediante el programa *denovo\_map.pl* el cual ejecuta de manera automática y secuencial los diferentes módulos del *pipeline*. En el módulo *ustacks* se usó una profundidad mínima requerida para crear un *stack* o pila (**-m 5**) y un número máximo permisible de no coincidencias (*mismatches*) de nucleótidos entre *stacks* (**-M 3**). Se generó el catálogo de *loci* en el módulo *cstacks* con una distancia permitida entre los *loci* en el catálogo (**-n 4**). Adicionalmente, se probaron combinaciones variando los valores del parámetro **-M** para la detección de SNPs.

Posteriormente, para la obtención de genotipos se realizó un filtrado de los archivos generados para el valor seleccionado de **-M** 3 con el programa *populations*. De esta manera, el porcentaje mínimo de individuos en una población requerido para procesar un *locus* se mantuvo fijo en 80% (**-r** 0.8), se consideró la frecuencia del alelo menor (**min\_maf** > 0.05), se restringió el análisis de datos solo al primer SNP por *locus* utilizando el parámetro **write\_single\_snp** y solo se probaron valores de cinco a nueve como número mínimo de poblaciones en las que debe estar presente un *locus* para ser procesado (**-p**) donde nueve es el número total de localidades.

Subsecuentemente, se eligió el valor del parámetro **-p** con base en un balance óptimo entre el número de SNPs y el promedio de datos faltantes (*missing data*) obtenidos para cada prueba de **-p** filtrando por medio del programa VCF tools v.3.0 (Danecek *et al.*, 2011). Una vez elegido el valor de **-p**, se evaluó el tamaño de muestra por localidad considerando el 30%, 20% y 10% de datos faltantes y se seleccionó el porcentaje que retuvo mayor cantidad de individuos por localidad.

Por último, se generó un archivo de formato *genepop* filtrado, el cual se convirtió en distintos formatos necesarios para los siguientes análisis utilizando el software PGDSPIDER v.2.1.1.5 (Lischer y Excoffier, 2012).

## 6.5 Prueba exploratoria de estructuración poblacional

En primera instancia, se realizó un análisis exploratorio para elucidar la posible estructura poblacional. En este sentido, se asumió que todas las localidades representan una sola población para el análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg que se ejecutó en el paquete Adegenet v.2.1.1 (Jombart *et al.*, 2010) para R v.3.5.2 (R Development Core Team, 2008).

Se utilizaron 10,000 permutaciones y la corrección secuencial de *Bonferroni* para la identificación de marcadores putativamente neutrales. De esta manera, se realizaron dos pruebas de estructuración poblacional de dicho grupo de marcadores: 1) Un análisis de diferenciación  $F_{ST}$  (Nei, 1987) en el software Arlequin v.3.5 (Excoffier y Lischer, 2015) y, 2) un Análisis Discriminante de Componentes Principales (ADCP) en el programa Adegnet v.2.1.1 (Jombart *et al.*, 2010) también en R.

Se identificaron tres agrupaciones en los análisis exploratorios de estructuración poblacional: 1) Sur, localidades costeras de San Juanico a Isla Natividad; 2) Norte, Isla Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José; 3) Isla Guadalupe. Esta estructura poblacional se consideró posteriormente, tanto para la detección de SNPs bajo selección como para la identificación de marcadores en Equilibrio de Hardy-Weinberg.

#### 6.6 Detección de SNPs bajo selección

Los SNPs potencialmente candidatos a selección u *outliers* se identificaron mediante los softwares BAYESCAN v.2.1 (Foll y Gaggiotti, 2008) y ARLEQUIN v.3.5 (Excoffier y Lischer, 2015). El software BAYESCAN v.2.1 estima los coeficientes  $F_{ST}$  específicos de la población por el método bayesiano descrito en Beaumont y Balding (2004) y contrasta dos modelos (uno con y otro sin selección). Los parámetros utilizados para la detección de SNPs fueron los siguientes: una probabilidad posterior superior a 0.95, valores que se consideraron atípicos, 10,000 iteraciones de calentamiento seguidas de 100,000 iteraciones y se consideraron las tres agrupaciones.

En el caso de ARLEQUIN v.3.5, utiliza simulaciones coalescentes para crear una distribución nula de estadísticos  $F$  para generar los valores de probabilidad  $p$  para cada locus con base en su distribución y los niveles de heterocigocidad observada

(Excoffier *et al.*, 2009). Los parámetros se establecieron con los valores predeterminados del software (100,000 simulaciones y 100 repeticiones por grupo). En ambos programas se consideraron *outliers* aquellos marcadores en la distribución de  $F_{ST}$  con valores de  $p < 0.01$ .

### 6.7 Marcadores en Equilibrio de Hardy-Weinberg (HW)

El análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg se ejecutó en el paquete Adegenet v.2.1.1 (Jombart *et al.*, 2010) para R v.3.5.2 (R Development Core Team, 2008) esta vez con los individuos clasificados en tres grupos: 1) Sur; 2) Norte; 3) Isla Guadalupe; tal como se describió en el apartado de la prueba exploratoria de estructuración poblacional, se utilizaron 10,000 permutaciones y la corrección secuencial de *Bonferroni*. Se consideraron como marcadores en equilibrio de HW a aquellos que se encontraron en equilibrio en dos de las tres agrupaciones y los que estuvieron en desequilibrio fueron descartados de los análisis posteriores.

### 6.8 Análisis de Diversidad

Se calcularon los valores de heterocigocidad esperada ( $H_E$ ) de todos los individuos utilizando el software Arlequin v.3.5 (Excoffier y Lischer, 2015) con el 20% de datos faltantes para el set de marcadores neutrales para cada localidad del muestreo.

Posteriormente, se realizaron las pruebas de homogeneidad de varianzas de Levene y normalidad, así como la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y una prueba *a posteriori* de comparaciones pareadas de Wilcoxon para determinar diferencias significativas entre los valores de  $H_E$  nuevamente en los grupos: 1) Sur, localidades de San Juanico a Isla Natividad; 2) Norte, localidades de Isla

Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José; 3) Isla Guadalupe. Se utilizó el paquete Stats v.3.6.0 en el software R v.3.5.2 (R Development Core Team, 2008).

## 6.9 Diferenciación poblacional y agrupamiento

En primer lugar, se prepararon tres matrices de datos para las pruebas poblacionales y de agrupamiento con base en los marcadores moleculares:

1. Grupo de marcadores globales
2. Grupo de marcadores neutrales
3. Grupo de marcadores *outliers*

Se cuantificó el grado de diferenciación poblacional mediante comparaciones pareadas con el estimador  $F_{ST}$  donde los valores de 1 indican total diferenciación y valores de 0 nula diferenciación poblacional (Nei, 1987) y se calcularon intervalos de confianza del 95% para las comparaciones con base en 10,000 permutaciones en el software ARLEQUIN v.3.5 (Excoffier y Lischer, 2015) permitiendo 0.1 de datos faltantes (10%) para todos los grupos de marcadores. Adicionalmente, para el grupo de marcadores neutrales se realizó una prueba Mantel (Mantel, 1967) de Aislamiento por Distancia (IBD) utilizando matrices de distancia geográfica y de valores de  $F_{ST}$  también en el software ARLEQUIN v.3.5 (Excoffier y Lischer, 2015).

Por otro lado, se llevó a cabo un Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) en el paquete Adegenet v.2.1.1 (Jombart *et al.*, 2010) implementado en R v.3.5.2 (R Development Core Team, 2008). El DAPC es un método que maximiza las diferencias entre grupos y minimiza la variación dentro de los grupos o poblaciones potenciales. Se consideró información previa sobre las poblaciones en función de los sitios de muestreo y utilizamos la función *find.clusters* para evaluar el número óptimo de grupos con el método de Criterio de Información Bayesiano (BIC).

Para evaluar el número de *clusters* genéticos más probable y el grado de mezcla entre las poblaciones se realizó un análisis de *clusters* o agrupamiento mediante el software STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). Este software implementa un método de agrupamiento basado en modelos para inferir la estructura de la población utilizando datos de genotipo y supone un modelo en el que hay  $K$  poblaciones, cada una de las cuales se caracteriza por un conjunto de frecuencias alélicas en cada locus. Los individuos se asignan probabilísticamente a poblaciones o conjuntamente a dos o más poblaciones si sus genotipos indican que están mezclados. Se utilizaron 10,000 iteraciones de calentamiento seguidas por 100,000 pasos de la Cadena Markov Monte Carlo (MCMC, por sus siglas en inglés) asumiendo un modelo de mezcla basado en individuos y considerando a los sitios de muestreo como poblaciones potenciales. Asimismo, la prueba se realizó con valores de 1 a 10 grupos ( $K$ ) y con 5 iteraciones para cada valor. El número de grupos más probable se evaluó a través de la prueba de Evanno (Evanno *et al.*, 2005).

Finalmente, para evaluar la repartición de la variación genética en diferentes órdenes jerárquicos y evaluar distintas hipótesis de regionalización, se realizó un análisis jerárquico de varianza molecular (AMOVA, Excoffier *et al.*, 1992) en el software ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer, 2015), tanto para el grupo de marcadores neutrales como para el grupo de marcadores candidatos a selección compartidos por ambos métodos de detección utilizados. Se asumieron las siguientes hipótesis:

1. **Hipótesis 1, tres poblaciones:** 1) Sur, compuesta por las localidades de San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia e Isla Natividad; 2) Norte, por las localidades de Isla Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José; 3) Isla Guadalupe.
2. **Hipótesis 2, dos poblaciones:** 1) Sur, de San Juanico a Isla Natividad y, 2) Norte, de Isla Cedros a Faro San José, incluyendo Isla Guadalupe.

3. **Hipótesis 3:** Diferenciación entre las localidades de islas contra localidades Costeras.
4. **Hipótesis 4:** Diferenciación entre la localidad de Isla Guadalupe contra el resto de las localidades (Península).
5. **Hipótesis 5:** Diferenciación entre grupos de localidades que conforman las cuatro áreas administrativas de la pesquería del recurso abulón amarillo.

## 7. RESULTADOS

Se secuenciaron 192 muestras de 10 localidades de la península de Baja California pertenecientes a las cuatro áreas administrativas descritas para su manejo en la NOM-005-PESC-93 y NOM-009-SAG/PESC-2015 (Tabla II).

**Tabla II.** Tamaño de muestra por localidad y área administrativa.

<b>Localidad</b>	<b>N</b>	<b>Área administrativa</b>
Faro San José	20	I
Isla Guadalupe	20	I
Isla San Jerónimo	20	I
Isla Cedros	20	I
Punta Eugenia	20	II
Isla Natividad	24	II
Bahía Tortugas	20	II
Bahía Asunción	20	III
La Bocana	8	III
San Juanico	20	IV

### 7.1 Parametrización y genotipificación

Se obtuvieron un total de 1,375,139,686 lecturas de las cuáles el 98% pasaron los filtros de calidad de ***process\_radtags*** representando un promedio de 7 millones de lecturas retenidas por individuo aproximadamente. Se descartaron 29 individuos que presentaron menos de 1.5 millones de lecturas, un individuo duplicado utilizado para determinar el error de genotipificación (0.03) y tres individuos más que fueron identificados como abulón azul (*Haliotis fulgens*) por medio del gen Citocromo Oxidasa I (COI) en una prueba de ADN mitocondrial.

Una vez realizado el *demultiplex* de las secuencias, se ejecutó el componente **denovo\_map.pl** con las muestras con más de 1.5 millones de lecturas y se obtuvo una profundidad promedio de 52x por individuo, solo dos individuos mostraron profundidades menores a 20x (1.2%) y fueron descartados.

La parametrización en este módulo consistió en determinar la cantidad óptima de sitios variantes con base en el parámetro **-M** para el que se probaron los valores de uno a siete. De esta manera, se observó que a valores más altos de **-M** disminuyó la cantidad de *loci* pero aumentó la cantidad de sitios variantes (Tabla III). Por lo tanto, se eligió el valor **-M 3** como aquel que permitió un mejor balance entre la cantidad de *loci* y sitios variantes encontrados.

**Tabla III.** Obtención de sitios variantes o SNPs con diferentes valores del parámetro **-M** en el componente *denovo\_map.pl*.

<b>-M</b>	<b>Locí</b>	<b>Total de sitios</b>	<b>Sitios variantes</b>	<b>Locí paired end</b>	<b>Locí single end/paired end overlap</b>
1	616,684	168,859,149	1,075,426	594,948	298,146
2	613,524	168,112,468	1,071,968	591,564	295,417
3	610,512	167,445,673	1,079,563	588,300	292,039
4	608,469	166,990,578	1,090,087	585,838	289,105
5	605,354	166,246,196	1,108,433	582,296	285,566
6	602,922	165,670,362	1,123,784	579,384	282,464
7	600,476	165,096,135	1,144,049	576,698	279,480

En el módulo **populations**, se probó el efecto del parámetro **-p** con valores de 5 a 10 y se observó que al incrementar **-p** disminuyó la cantidad de *loci* y los sitios variantes (Tabla IV).

**Tabla IV.** Filtro para la obtención de sitios variantes o SNPs con diferentes valores del parámetro  $-p$  para el parámetro  $-M$  3 en el componente populations.

$-p$	<i>Loci</i>	Total de sitios	Sitios variantes	<i>Loci</i> paired end	<i>Loci</i> single end/paired end overlap
5	11,580	3,447,618	6,985	11,402	2,967
6	7,831	2,361,150	4,397	7,704	1,223
7	4,270	1,294,736	2,852	4,197	484
8	3,278	1,000,987	2,194	3,232	266
9	2,507	769,138	1,622	2,479	162
10	1,585	488,738	961	1,572	86

Con los resultados de cada nivel de  $-p$  se realizó una evaluación de datos faltantes (*missing data*). En la tabla V se muestra que el porcentaje de datos faltantes disminuye a medida que el valor de  $-p$  se aproxima al número total de localidades, que para este caso es  $-p$  10. Por lo que, para el grupo de datos final se tomó en cuenta, tanto el promedio de datos faltantes como la cantidad de SNPs encontrados y se eligió el valor de  $-p$  9.

**Tabla V.** Porcentaje de datos faltantes y cantidad de SNPs para distintos valores de  $-p$ .

	$-p$ 10	$-p$ 9	$-p$ 8	$-p$ 7	$-p$ 6	$-p$ 5
% Promedio datos faltantes	6.09	10.49	15.08	20.41	29.56	39.37
SNPs	961	1,622	2,194	2,852	4,397	6,985

Adicionalmente, para el valor seleccionado de  $-p$  9 se descartó un individuo que presentó un nivel  $\geq 30\%$  de datos faltantes en su genotipo (Tabla VI).

**Tabla VI.** Cantidad de individuos por localidad para tres porcentajes de datos faltantes.

Localidad	Datos faltantes		
	>10%	>20%	>30%
Isla San Jerónimo	2	0	0
Isla Guadalupe	2	1	0
Faro San José	9	9	0
Isla Cedros	2	0	1
Punta Eugenia	8	1	0
Isla Natividad	2	0	0
Bahía Tortugas	7	0	0
Bahía Asunción	6	0	0
La Bocana	8	0	0
San Juanico	3	0	0
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>11</b>	<b>1</b>

Además, se descartaron nueve individuos que presentaron genotipos similares en un igual o mayor al 0.8 y que probablemente fueron duplicados por error en el muestreo o por contaminación durante la preparación de librerías genómicas en el laboratorio. Los filtros de los individuos descartados se resumen en la tabla VII.

**Tabla VII.** Individuos descartados a través de los filtros del proceso de genotipificación.

Filtros	Individuos descartados
<i>Process_radtags</i> < 1.5 millones de lecturas	29
Error de genotipificado (0.03)	1
<i>Haliotis fulgens</i>	3
Profundidad < 20x	2
Porcentaje de Datos Faltantes > 30%	1
Duplicados > 0.80	9
<b>Total</b>	<b>45</b>

Finalmente, se obtuvo un total de 147 individuos para las 10 localidades del muestreo distribuidas en las Áreas Administrativas como se muestra en la tabla VIII.

**Tabla VIII.** Tamaño de muestra final por localidad y área administrativa después de los filtros de genotipificación.

<b>Localidad</b>	<b>n</b>	<b>Área administrativa</b>
Isla San Jerónimo	13	I
Isla Guadalupe	19	I
Faro San José	9	I
Isla Cedros	19	I
Punta Eugenia	20	II
Isla Natividad	9	II
Bahía Tortugas	15	II
Bahía Asunción	15	III
La Bocana	8	III
San Juanico	20	IV

De esta manera, se repitió el módulo *populations* en cuatro etapas para denotar la influencia de los parámetros que lo componen. En la primera etapa solo se incluyó el parámetro *-r*, en la segunda *-r* y *-p*, en una tercera *-r*, *-p* y *-min\_maf*, y en la cuarta los parámetros *-r*, *-p*, *-min\_maf* y *-write\_single\_snp*. El resultado fue un total de 1,796 marcadores SNPs (Tabla IX).

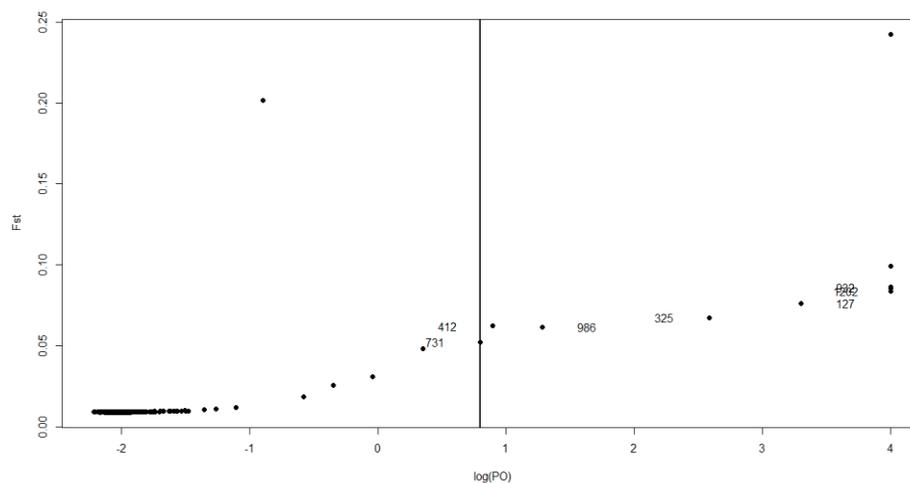
**Tabla IX.** Filtro para la obtención de sitios variantes o SNPs. La fila **Total** indica la combinación final de los parámetros utilizados en el módulo *populations*: *-M = 3*, *-p = 9*, *-r = 0.8*, *-min\_maf = 0.05* y *--write\_single\_snp*.

<b>Filtros</b>	<b>Loci</b>	<b>Total de sitios</b>	<b>Sitios variantes</b>	<b>Loci paired end</b>	<b>Loci single end/paired end overlap</b>
<i>-r</i>	40,537	11,145,124	232,793	39,933	21,044
<i>-r -p</i>	2,776	849,412	19,636	2,739	194
<i>-r -p -min_maf</i>	2,776	849,412	5,496	2,739	194
<b>Total</b>	2,776	849,412	<b>1,796</b>	2,739	194

## 7.2 Detección de SNPs bajo selección

### 7.2.1 Detección de *outliers* mediante Bayescan

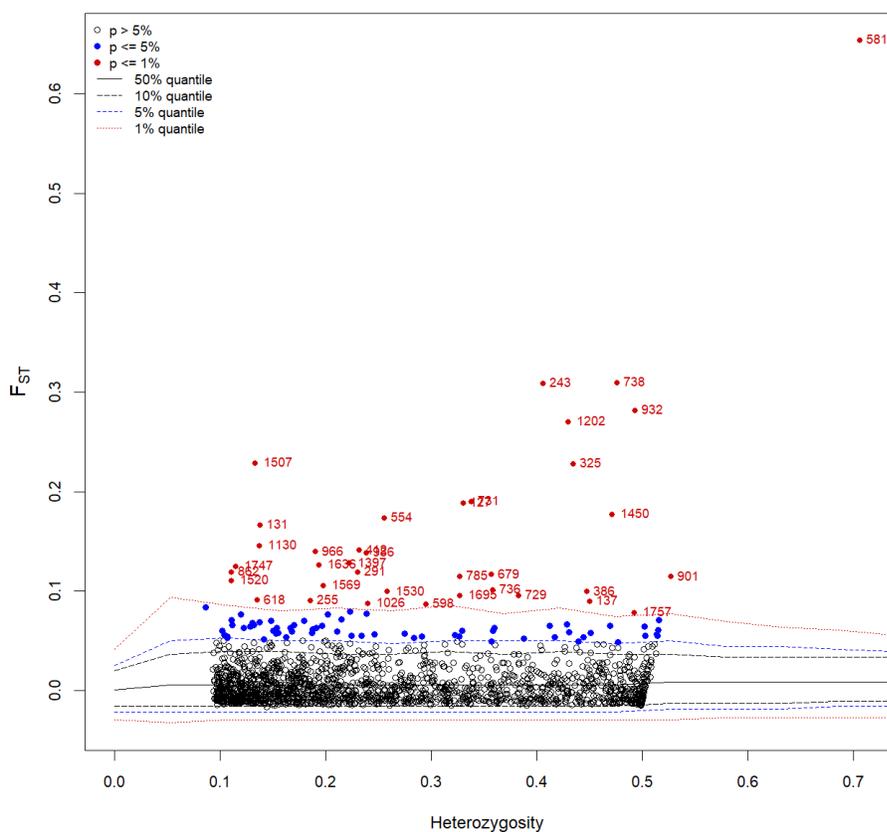
Se obtuvieron 10 marcadores presuntamente bajo selección u *outliers* con un nivel de probabilidad  $p < 0.05$ , los cuales se muestran en la figura 2 y son los que presentan valores mayores a  $\log(\text{PO})$  0.6.



**Figura 2.** Detección de marcadores *outliers*, a la derecha de la marca  $\log(\text{PO})$  0.6 mediante el software Bayescan 2.0.

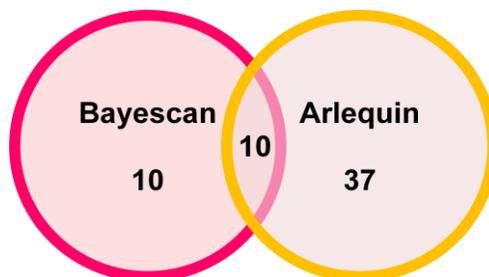
### 7.2.2 Detección de *outliers* con Arlequin

Mediante el software Arlequin 3.5 se consideraron como marcadores *outliers* a aquellos que se identificaron como marcadores bajo selección divergente y se pueden apreciar en la figura 3 por arriba del intervalo de 99% de confianza, se detectaron 37 marcadores en total.



**Figura 3.** Marcadores bajo selección divergente se encuentran numerados por arriba del intervalo de 99% en color rojo y los marcadores por debajo del intervalo en color azul se encuentran bajo selección balanceadora.

Al evaluar el número de marcadores compartidos por ambos softwares, se detectó que el total de los 10 marcadores *outliers* de Bayescan fueron encontrados en común con Arlequin (Fig. 4).



**Figura 4.** Marcadores candidatos a selección (*outliers*) detectados en común entre los programas Bayescan y Arlequin.

### 7.3 Marcadores en equilibrio de Hardy-Weinberg (HW)

La detección de marcadores en desequilibrio de HW con base en una matriz de genotipos asumiendo las tres agrupaciones previamente observadas en la prueba exploratoria de estructuración poblacional resultó en un total de 1,733 marcadores en equilibrio de HW y 63 marcadores en desequilibrio fueron eliminados y descartados de los análisis subsecuentes.

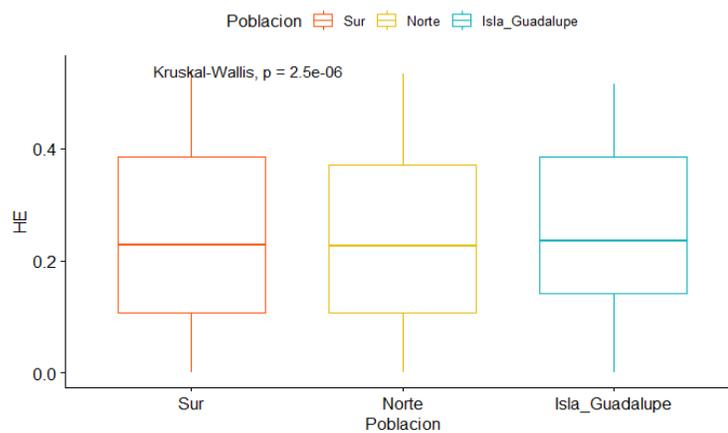
### 7.4 Diversidad genética

En general, los valores promedio de heterocigocidad esperada ( $H_E$ ) fluctuaron entre 0.2402 y 0.2637, con excepción de las localidades de La Bocana (0.2195) y Faro San José (0.1988). Sin embargo, se observó una tendencia latitudinal con valores bajos en el sur y valores ligeramente mayores en las localidades del norte; entre las que destacan las localidades isleñas (Tabla X).

**Tabla X.** Valores promedio de Heterocigocidad esperada ( $H_E$ ) para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) por localidad.

<b>Localidad</b>	<b><math>H_E</math> Promedio</b>	<b>Desv. Est.</b>
<b>San Juanico</b>	0.2449	0.1504
<b>La Bocana</b>	0.2195	0.1839
<b>Bahía Asunción</b>	0.2402	0.1611
<b>Bahía Tortugas</b>	0.2406	0.1589
<b>Punta Eugenia</b>	0.2450	0.1528
<b>Isla Natividad</b>	0.2588	0.1721
<b>Isla Cedros</b>	0.2637	0.1475
<b>Isla Guadalupe</b>	0.2605	0.1482
<b>Isla San Jerónimo</b>	0.2513	0.1622
<b>Faro San José</b>	0.1988	0.1838

Posteriormente, los valores de  $H_E$  de todos los individuos se clasificaron en tres grupos: 1) Sur; 2) Norte; 3) Isla Guadalupe. La prueba de normalidad de residuales no se ajustó a una distribución normal y la de homogeneidad de varianzas fue significativamente diferente de cero ( $p < 0.05$ ). Por lo que se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y se encontró una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las agrupaciones como se observa en la figura 5.



**Figura 5.** Prueba no paramétrica para los valores de  $H_E$  del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) agrupados en tres: 1) Sur, localidades de San Juanico a Isla Natividad; 2) Norte, localidades de Isla Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José; 3) Isla Guadalupe.

Por lo tanto, se realizó una prueba *a posteriori* de comparaciones pareadas de Wilcoxon y se encontró que Isla Guadalupe es significativamente distinta de las agrupaciones del Sur y Norte ( $p < 0.05$ ) y que entre estas dos últimas agrupaciones no hay diferencia significativa como se muestra en la tabla XI.

**Tabla XI.** Prueba de comparaciones pareadas de Wilcoxon asumiendo tres poblaciones del abulón amarillo (*H. corrugata*).

	Isla Guadalupe	Norte
Norte	1.80E-06	-
Sur	6.60E-06	0.28

## 7.5 Diferenciación poblacional y agrupamiento

En esta sección se realizaron tres tipos de análisis:  $F_{ST}$ , Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) y Análisis de *clusters* con Structure. Asimismo, cada uno de estos análisis se realizó para tres grupos de marcadores: 1) marcadores globales; 2) marcadores putativamente neutrales; 3) marcadores candidatos a selección (*outliers*). En el caso de los análisis de  $F_{ST}$ , se consideró un valor de 0.1 de datos faltantes y se realizó la corrección secuencial de *Bonferroni*.

### 7.5.1 Análisis global

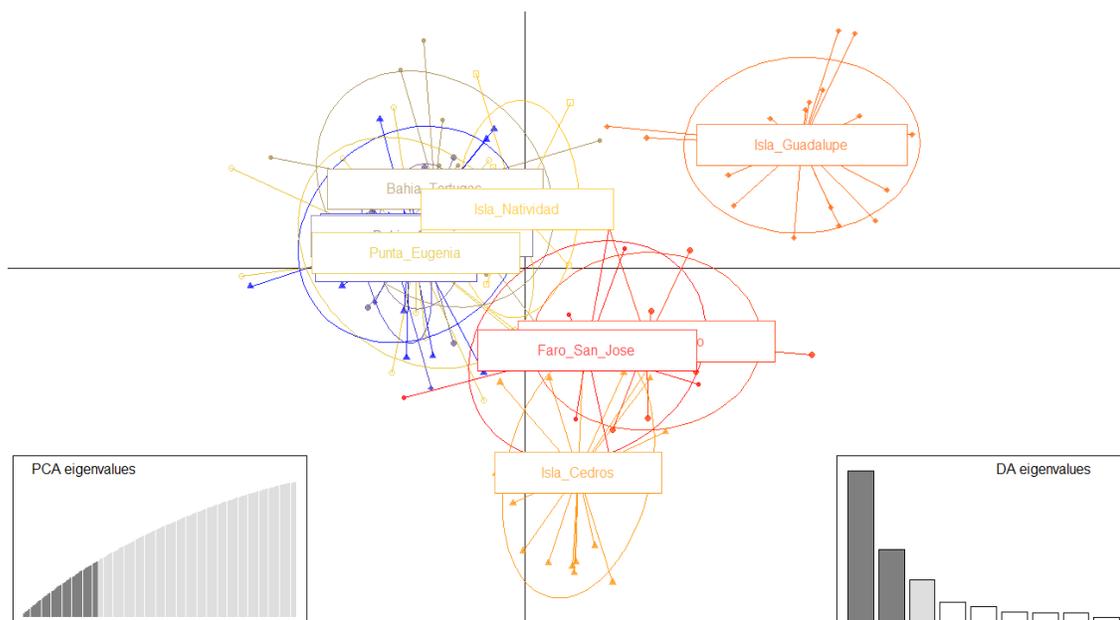
El análisis de  $F_{ST}$  global mostró valores de diferenciación que separan a las localidades de Isla Guadalupe e Isla San Jerónimo del resto de las localidades, con excepción de La Bocana. Sin embargo, este patrón solo se mantuvo para Isla Guadalupe una vez que se realizó la corrección secuencial de *Bonferroni*, dichas diferencias se pueden apreciar en la tabla XII.

**Tabla XII.** Análisis comparativo de valores de  $F_{ST}$  para el grupo de datos global usando 952 de 1,796 *loci* para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*). Debajo de la diagonal se muestran los valores de  $F_{ST}$  y por encima de la diagonal los valores de  $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas valores menores al alfa obtenido por la corrección secuencial de *Bonferroni* ( $\alpha = 0.0014$ ).

	SJ	LB	BA	BT	PE	IN	IC	IG	ISJ	FSJ
SJ	-	0.999	0.299	0.326	0.099	0.020	0.057	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.999
LB	-0.016	-	0.999	0.999	0.999	0.604	0.999	0.581	0.988	0.999
BA	0.000	-0.018	-	0.472	0.260	0.266	0.325	<b>0.000</b>	0.003	0.999
BT	0.001	-0.020	-0.001	-	<b>0.001</b>	0.303	0.061	<b>0.000</b>	0.009	0.999
PE	0.001	-0.014	-0.000	<b>0.005</b>	-	0.093	0.082	<b>0.000</b>	<b>0.001</b>	0.999
IN	0.009	-0.006	0.003	0.003	0.005	-	0.025	<b>0.000</b>	0.039	0.999
IC	0.003	-0.015	0.001	0.004	0.002	0.009	-	<b>0.000</b>	0.190	0.999
IG	<b>0.013</b>	-0.001	<b>0.012</b>	<b>0.012</b>	<b>0.014</b>	<b>0.019</b>	0.011	-	<b>0.001</b>	0.999
ISJ	<b>0.008</b>	-0.006	0.007	0.007	<b>0.007</b>	0.011	0.004	<b>0.010</b>	-	0.999
FSJ	-0.039	-0.046	-0.031	-0.032	-0.035	-0.027	-0.046	-0.031	-0.037	-

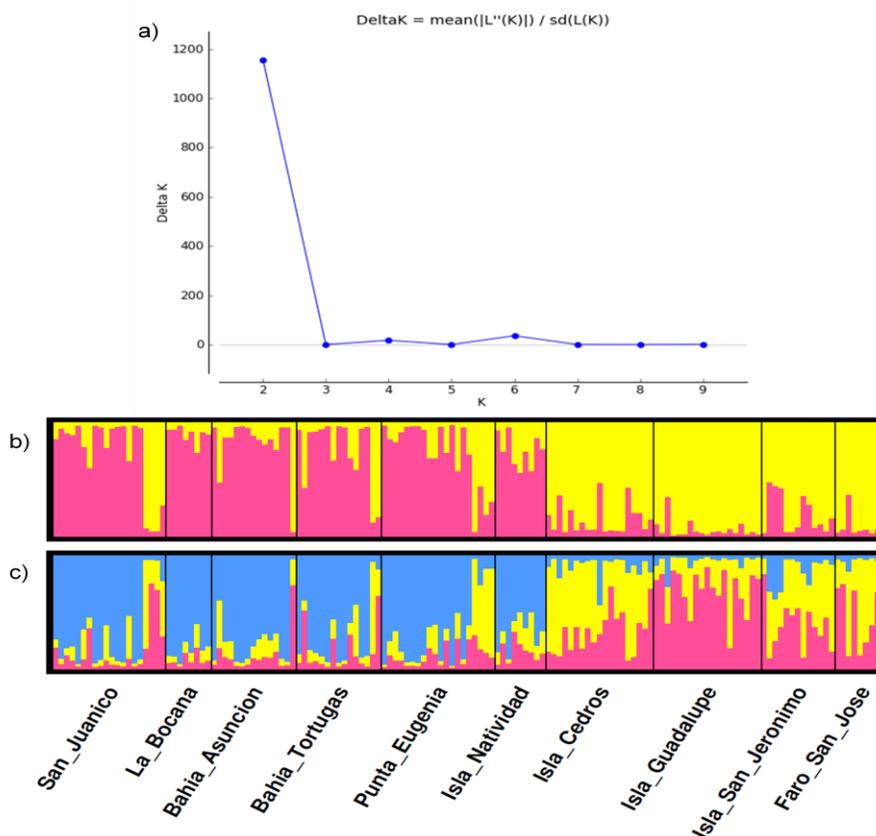
Donde: SJ = San Juanico, LB = La Bocana, BA = Bahía Asunción, BT = Bahía Tortugas, PE = Punta Eugenia, IN = Isla Natividad, IC = Isla Cedros, IG = Isla Guadalupe, ISJ = Isla San Jerónimo, FSJ = Faro San José.

En cuanto al ADCP, se identificaron tres agrupaciones o *clusters*: el primero es un grupo al sur de la península de Baja California compuesto por las localidades de San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia e Isla Natividad; un segundo grupo se ubicaría al norte conformado por las localidades de Isla Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José; y por último una tercera agrupación formada por Isla Guadalupe (Fig. 6).



**Figura 6.** Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) con un grupo de marcadores global de 1,796 *loci* con 60 componentes retenidos y 3 *eigenvalues*.

En el caso del análisis de *clusters*, la figura 7 muestra a  $K = 2$  como el número más probable de *clusters* encontrado mediante el método de Evanno, es decir, denota la presencia de dos grupos: Uno correspondiente a las localidades del Sur, desde San Juanico hasta Isla Natividad, y el otro formado por las localidades del Norte, desde Isla Cedros hasta Faro San José, incluyendo a Isla Guadalupe. Por otra parte, se tomó en cuenta el gráfico de la probabilidad de asignación de individuos a tres agrupaciones ( $K = 3$ ) donde se observó el mismo patrón de la agrupación entre las localidades del Sur y del Norte y se diferenció Isla Guadalupe como en el caso de los análisis de  $F_{ST}$  y ADCP.



**Figura 7.** Análisis de agrupamiento (*clusters*) del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) para el grupo de marcadores global de 1,796 *loci*. a) Número más probable de  $K$  utilizando el método de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) a partir del valor de delta  $K$  y la probabilidad de pertenencia individual (eje vertical) para: b) dos grupos ( $K = 2$ ) y, c) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades.

### 7.5.2 Análisis de Marcadores Neutrales

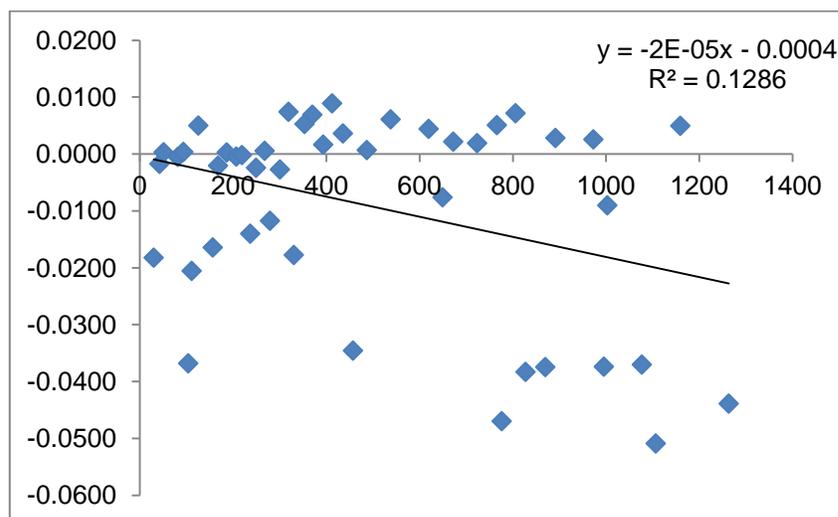
En el caso del análisis de  $F_{ST}$  con marcadores neutrales se obtuvieron valores de diferenciación que solo separaron a la localidad de Isla Guadalupe del resto. Por otro lado, con la corrección de *Bonferroni* dicha separación se limitó a diferencias específicas con las localidades de San Juanico, Punta Eugenia e Isla Cedros como se observa en la tabla XIII.

**Tabla XIII.** Análisis comparativo de valores de  $F_{ST}$  para el grupo de marcadores neutrales usando 931 de 1,733 *loci* para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*). Debajo de la diagonal se muestran los valores de  $F_{ST}$  y por encima de la diagonal los valores de  $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas los valores menores al alfa obtenido por la corrección secuencial de *Bonferroni* ( $\alpha = 0.0012$ ).

	SJ	LB	BA	BT	PE	IN	IC	IG	ISJ	FSJ
SJ	0	0.999	0.313	0.387	0.082	0.109	0.520	<b>0.000</b>	0.018	0.999
LB	-0.016	0	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.994	0.998	0.999
BA	0.000	-0.018	0	0.505	0.334	0.757	0.973	0.015	0.159	0.999
BT	0.001	-0.021	-0.001	0	<b>0.003</b>	0.845	0.786	0.003	0.251	0.999
PE	0.002	-0.014	-0.001	<b>0.005</b>	0	0.619	0.476	<b>0.000</b>	<b>0.012</b>	0.999
IN	0.004	-0.012	-0.002	-0.002	-0.002	0	0.777	0.028	0.580	0.999
IC	0.001	-0.018	-0.003	-0.000	0.000	0.000	0	<b>0.000</b>	0.478	0.999
IG	<b>0.007</b>	-0.008	0.004	0.006	<b>0.009</b>	0.007	<b>0.007</b>	0	0.038	0.999
ISJ	0.005	-0.009	0.003	0.0023	0.005	0.002	0.002	0.005	0	0.999
FSJ	-0.044	-0.051	-0.037	-0.037	-0.038	-0.038	-0.047	-0.035	-0.037	0

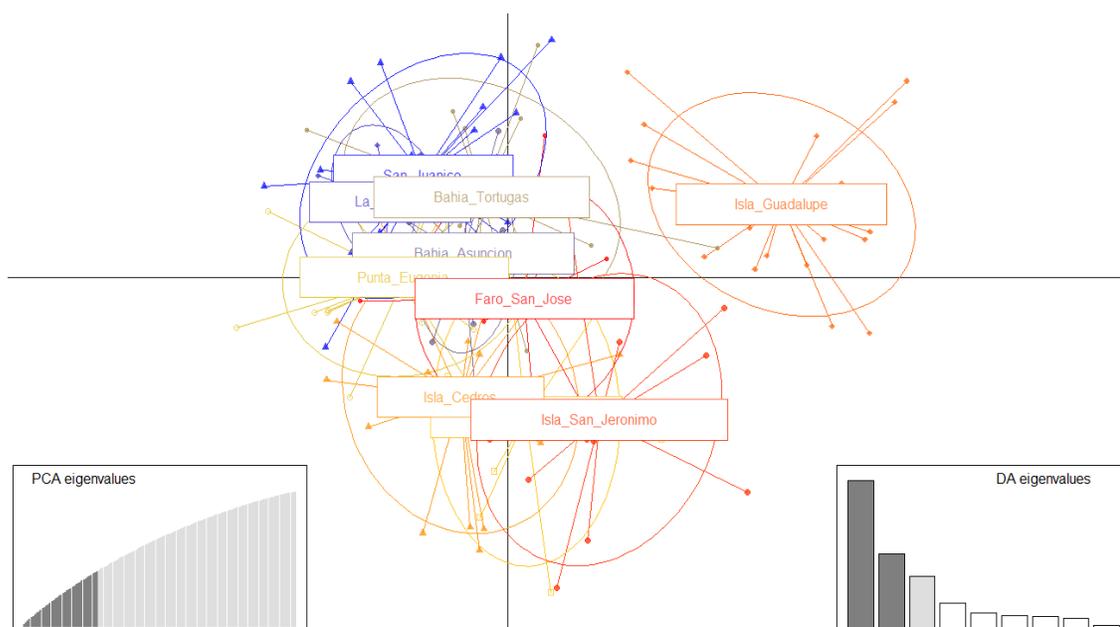
Donde: SJ = San Juanico, LB = La Bocana, BA = Bahía Asunción, BT = Bahía Tortugas, PE = Punta Eugenia, IN = Isla Natividad, IC = Isla Cedros, IG = Isla Guadalupe, ISJ = Isla San Jerónimo, FSJ = Faro San José.

Además, al comparar las distancias geográficas con los valores de  $F_{ST}$  mediante la prueba Mantel no se encontró Aislamiento por Distancia (IBD) ( $p > 0.05$ ) como se observa en la figura 8 con un valor de  $R^2$  de 0.1286.



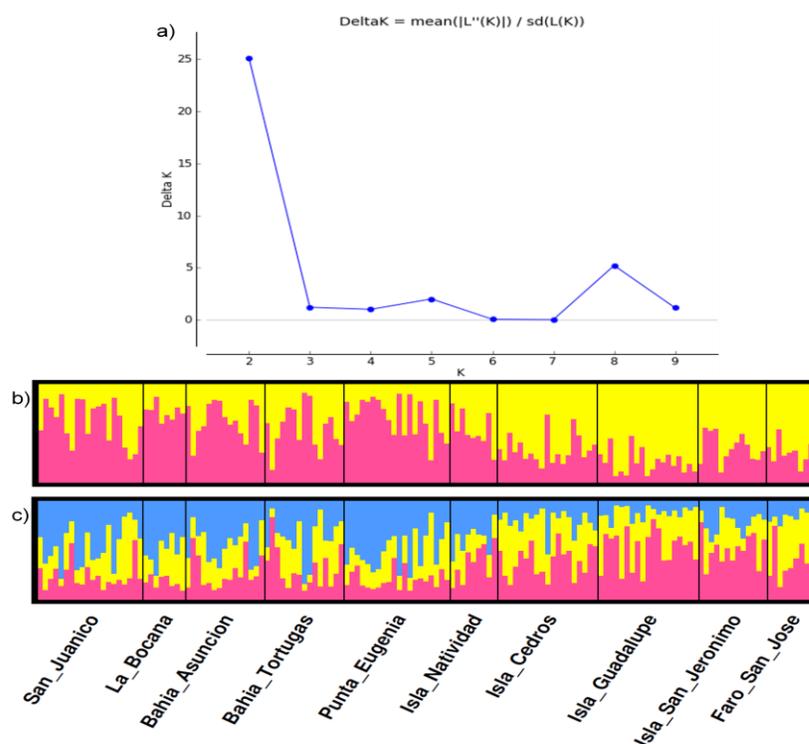
**Figura 8.** Prueba Mantel de aislamiento por distancia para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) para el grupo de marcadores neutrales (1,733 loci).

En el ADCP se observaron dos agrupamientos: Uno en el que sobresale únicamente la localidad de Isla Guadalupe y otro con el resto de las localidades. No obstante, en el segundo grupo se observaron dos subgrupos al interior, uno constituido por las localidades isleñas de Isla Natividad, Isla Cedros e Isla San Jerónimo y otro por las localidades costeras de San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia y Faro San José (Fig. 9).



**Figura 9.** Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) con el grupo de marcadores neutral de 1,733 *loci* utilizando 40 componentes retenidos y 3 *eigenvalues*.

El análisis de *clusters* en la figura 10 también mostró que el valor más probable es de  $K = 2$  encontrado mediante el método de Evanno, indicando la presencia de dos grupos del mismo modo que con el grupo de marcadores globales. Sin embargo, en este caso se observó un patrón de diferenciación posiblemente asociado con el gradiente latitudinal de Norte a Sur con el mayor grado de mezcla en las localidades de Isla Natividad y Punta Eugenia, las cuales se encuentran al centro de la Península y zona de muestro del presente estudio. En contraste, el análisis de tres *clusters* ( $K = 3$ ) no mostró una diferenciación clara de Isla Guadalupe con el resto de las demás localidades muestreadas para el grupo de marcadores putativamente neutrales como con el ADCP, pero se mantuvo la tendencia del gradiente latitudinal observado para dos *clusters*.



**Figura 10.** Análisis de agrupamiento (*clusters*) del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) para el grupo de marcadores neutrales de 1,733 *loci*. a) Número más probable de  $K$  utilizando el método de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) a partir del valor de delta  $K$  y la probabilidad de pertenencia individual (eje vertical) para: a) dos grupos ( $K = 2$ ), y b) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades.

En la tabla XIV se muestra las cinco hipótesis de regionalización que fueron probadas mediante un AMOVA jerárquico para el grupo de marcadores neutrales y se observó en todas las pruebas que el 100% de la variación se explicó al interior de los individuos y que ninguno de estos valores fue significativo ( $p > 0.05$ ).

**Tabla XIV.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) jerárquico para las cinco hipótesis de regionalización utilizando el grupo de marcadores neutrales con un total de 1,733 *loci* del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*).

Hipótesis	Fuente de Variación	g.l.	Índices de fijación	% de variación	P
<b>H1</b> Tres Poblaciones: Sur - Norte - I. Gpe.	Entre Grupos	2	$F_{CT}$ : 0.0136	1.36	0.0850
	Entre poblaciones dentro de los grupos	7	$F_{SC}$ : -0.0423	-4.18	1
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : -0.0219	2.25	0.0481
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : -0.0057	100.57	0.7379
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H2</b> Sur vs Norte	Entre Grupos	1	$F_{CT}$ : 0.0025	0.25	0.6420
	Entre poblaciones dentro de los grupos	8	$F_{SC}$ : -0.0349	-3.48	1
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.0219	2.26	0.0457
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : -0.0099	100.97	0.7323
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H3</b> Islas vs Costeras	Entre Grupos	1	$F_{CT}$ : 0.0016	0.16	0.7875
	Entre poblaciones dentro de los grupos	8	$F_{SC}$ : -0.0343	-3.43	1
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.0219	2.26	0.0483
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : -0.0102	101.02	0.7356
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H4</b> I. Gpe. Vs Península	Entre Grupos	1	$F_{CT}$ : 0.0121	1.21	1.0070
	Entre poblaciones dentro de los grupos	8	$F_{SC}$ : -0.0065	-0.65	1
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.0124	1.23	0.1750
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : -0.0179	98.21	0.2192
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H5</b> Áreas Administrativas	Entre Grupos	3	$F_{CT}$ : 0.0105	1.05	0.3074
	Entre poblaciones dentro de los grupos	6	$F_{SC}$ : -0.0421	-4.16	1
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.0219	2.25	0.0489
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : -0.0086	100.86	0.7343
	<b>Total</b>	<b>297</b>			

### 7.5.3 Análisis de marcadores *outliers*

Se realizaron los análisis para los grupos de marcadores *outliers* derivados de cada uno de los métodos de detección de marcadores sujetos a selección empleados.

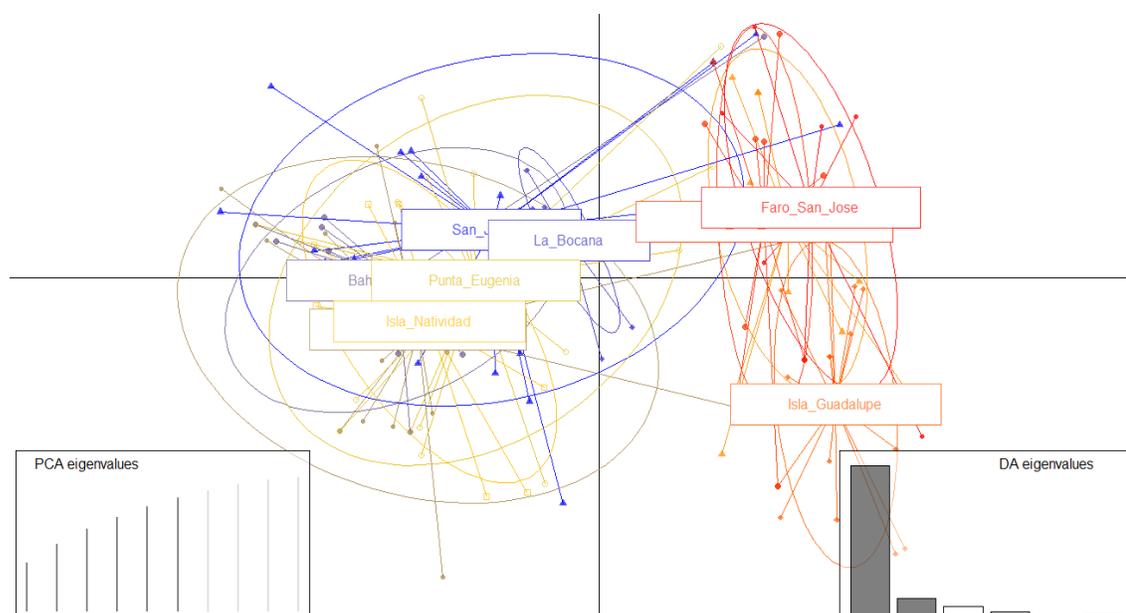
En una primera aproximación, el grupo de marcadores *outliers* obtenidos por Bayescan encontró una marcada diferenciación entre las localidades del Sur; es decir las localidades de San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia e Isla Natividad, con respecto a las localidades del Norte, Isla Cedros, Isla Guadalupe, Isla San Jerónimo y Faro San José. En general, tras la corrección secuencial de *Bonferroni* el patrón de diferenciación se mantuvo similar en el Norte. Específicamente, las localidades de Isla Cedros e Isla Guadalupe permanecieron sin modificación en contraste con las localidades de Isla San Jerónimo y Faro San José como se observa en la tabla XV.

**Tabla XV.** Análisis comparativo de valores de  $F_{ST}$  para el grupo de marcadores candidatos a selección (*outliers*) usando 6 de 10 *loci* obtenidos por el método Bayesiano para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*). Debajo de la diagonal se muestran los valores de  $F_{ST}$  y por encima de la diagonal los valores de  $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas los valores menores al alfa obtenido por la corrección secuencial de *Bonferroni* ( $\alpha = 0.0020$ ).

	SJ	LB	BA	BT	PE	IN	IC	IG	ISJ	FSJ
SJ	0	0.369	0.542	0.258	0.800	0.271	<b>0.001</b>	<b>0.000</b>	0.019	0.011
LB	0.032	0	0.599	0.529	0.415	0.225	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.004	<b>0.001</b>
BA	0.004	-0.005	0	0.421	0.263	0.393	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
BT	0.028	0.001	0.009	0	0.264	0.177	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
PE	-0.008	0.024	0.025	0.026	0	0.361	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.080	0.004
IN	0.038	0.063	0.017	0.053	0.025	0	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>
IC	<b>0.216</b>	<b>0.391</b>	<b>0.356</b>	<b>0.370</b>	<b>0.184</b>	<b>0.329</b>	0	<b>0.001</b>	0.206	0.653
IG	<b>0.291</b>	<b>0.428</b>	<b>0.387</b>	<b>0.331</b>	<b>0.238</b>	<b>0.349</b>	<b>0.217</b>	0	0.008	0.008
ISJ	0.115	0.227	<b>0.230</b>	<b>0.217</b>	0.066	<b>0.223</b>	0.054	0.179	0	0.262
FSJ	0.190	<b>0.367</b>	<b>0.316</b>	<b>0.348</b>	0.174	<b>0.312</b>	-0.004	0.228	0.057	0

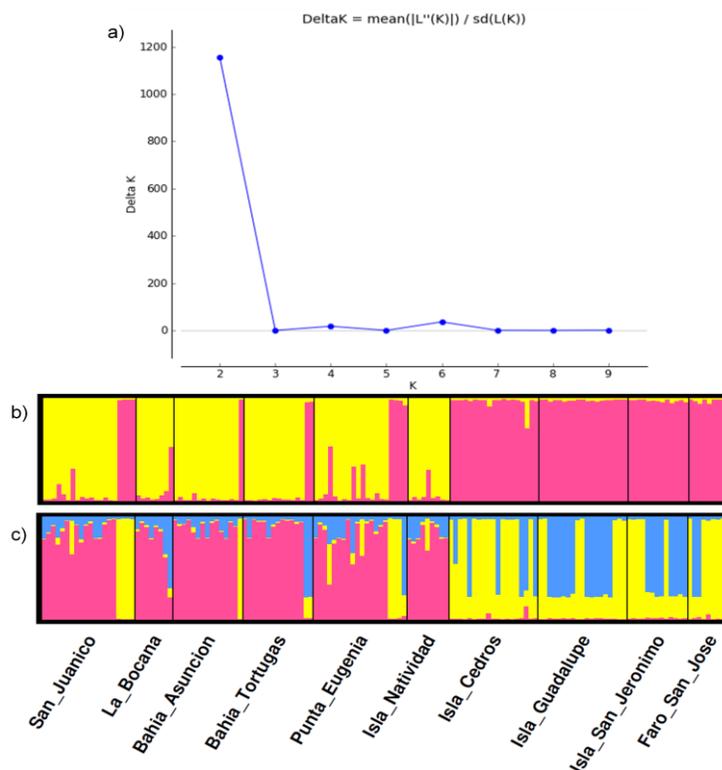
Donde: SJ = San Juanico, LB = La Bocana, BA = Bahía Asunción, BT = Bahía Tortugas, PE = Punta Eugenia, IN = Isla Natividad, IC = Isla Cedros, IG = Isla Guadalupe, ISJ = Isla San Jerónimo, FSJ = Faro San José.

El ADCP coincide con las dos agrupaciones encontradas por el análisis de  $F_{ST}$ . En este sentido, el ADCP diferenció dos grupos: uno al Sur de la Península compuesto claramente por las localidades de San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia e Isla Natividad, y otro al Norte por las localidades de Isla Cedros, Isla Guadalupe, Isla San Jerónimo y Faro San José. Sin embargo, en el grupo del Norte se observó que las localidades de Isla Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José están mejor agrupadas entre sí e Isla Guadalupe presenta una ligera separación de ellas (Fig. 11).



**Figura 11.** Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) con el grupo de marcadores *outliers* de 10 *loci* con 6 componentes retenidos y 2 *eigenvalues*.

Por otra parte, el análisis de *clusters* en la figura 12 mostró que el valor más probable de agrupaciones encontrado mediante el método de Evanno es  $K = 2$ . Con 10 marcadores candidatos a selección acentuó la presencia de dos grupos a diferencia de los grupos de marcadores globales y neutrales. Dicha separación de grupos se observó entre las localidades del Sur, desde San Juanico hasta Isla Natividad, y las del Norte, de Isla Cedros a Faro San José incluyendo Isla Guadalupe, con algunos individuos del *cluster* sur asignados al *cluster* norte. En comparación con  $K = 2$ , en el caso de una  $K = 3$  se observó el mismo patrón de separación marcada en dos grupos más una subestructura al interior de las localidades del Norte no bien diferenciada.



**Figura 12.** Análisis de agrupamiento (*clusters*) del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) para el grupo de marcadores *outliers* obtenidos por Bayescan v.2.0 de 10 *loci*. a) Número más probable de  $K$  utilizando el método de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) a partir del valor de delta  $K$  y la probabilidad de pertenencia individual (eje vertical) para: a) dos grupos ( $K = 2$ ) y, b) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades.

Ahora bien, en cuanto al grupo de marcadores *outliers* obtenidos por Arlequin, se observó el mismo patrón que con el grupo de marcadores *outliers* obtenidos por Bayescan. En la tabla XVI se muestran dos grupos en general, uno en la región Sur de la Península de Baja California compuesto por las localidades de San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia e Isla Natividad, y el otro en la región Norte, que comprende las localidades de Isla Cedros, Isla Guadalupe, Isla San Jerónimo y Faro San José.

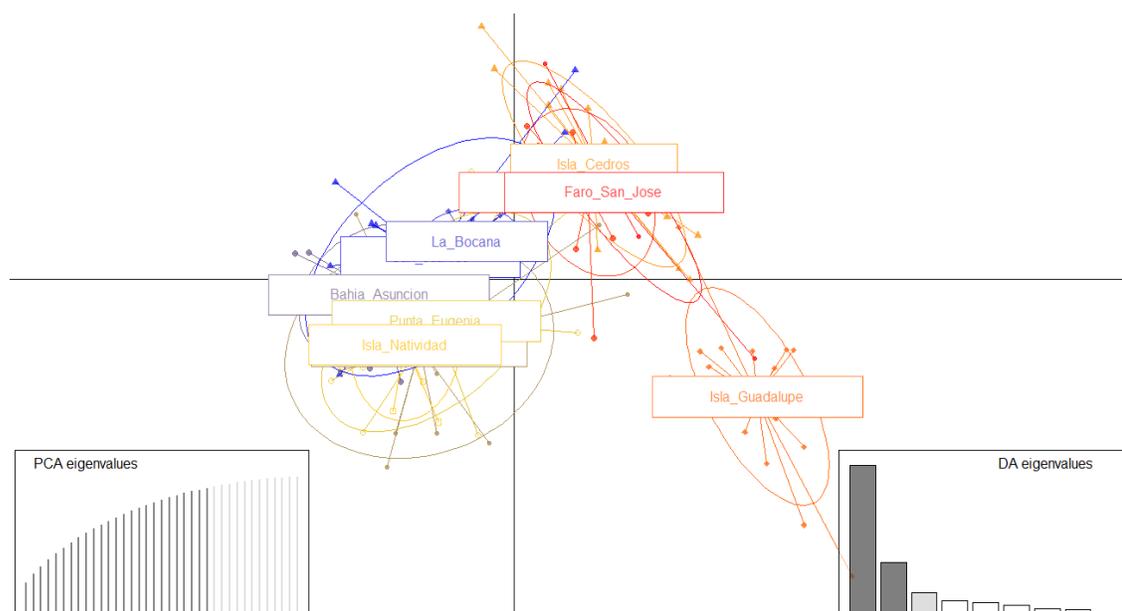
Además, cabe mencionar que tras la corrección de *Bonferroni*, los resultados fueron consistentes en la separación de las localidades de la región Sur con respecto a las de la región Norte.

**Tabla XVI.** Análisis comparativo de valores de  $F_{ST}$  para el grupo de marcadores candidatos a selección (*outliers*) obtenidos por Arlequin v.3.5 usando 15 de 37 *loci* para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*). Debajo de la diagonal se muestran los valores de  $F_{ST}$  y por encima de la diagonal los valores de  $p$ : en sombreado con gris los valores significativos ( $p < 0.05$ ) y en negritas los valores menores al alfa obtenido por la corrección de *Bonferroni* ( $\alpha = 0.0023$ ).

	SJ	LB	BA	BT	PE	IN	IC	IG	ISJ	FSJ
SJ	0	0.351	0.379	0.352	0.701	0.303	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.003	0.005
LB	0.015	0	0.409	0.382	0.363	0.154	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.002</b>	<b>0.002</b>
BA	0.007	0.004	0	0.161	0.050	0.511	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
BT	0.008	0.004	0.018	0	0.254	0.166	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
PE	-0.004	0.014	0.037	0.013	0	0.292	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.003	<b>0.002</b>
IN	0.018	0.043	-0.000	0.029	0.017	0	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
IC	<b>0.167</b>	<b>0.225</b>	<b>0.262</b>	<b>0.271</b>	<b>0.145</b>	<b>0.244</b>	0	<b>0.000</b>	0.133	0.669
IG	<b>0.234</b>	<b>0.241</b>	<b>0.301</b>	<b>0.256</b>	<b>0.188</b>	<b>0.258</b>	<b>0.161</b>	0	<b>0.000</b>	0.041
ISJ	0.120	<b>0.155</b>	<b>0.220</b>	<b>0.209</b>	0.087	<b>0.203</b>	0.040	0.135	0	0.707
FSJ	0.155	<b>0.238</b>	<b>0.277</b>	<b>0.277</b>	<b>0.135</b>	<b>0.256</b>	-0.004	0.072	-0.003	0

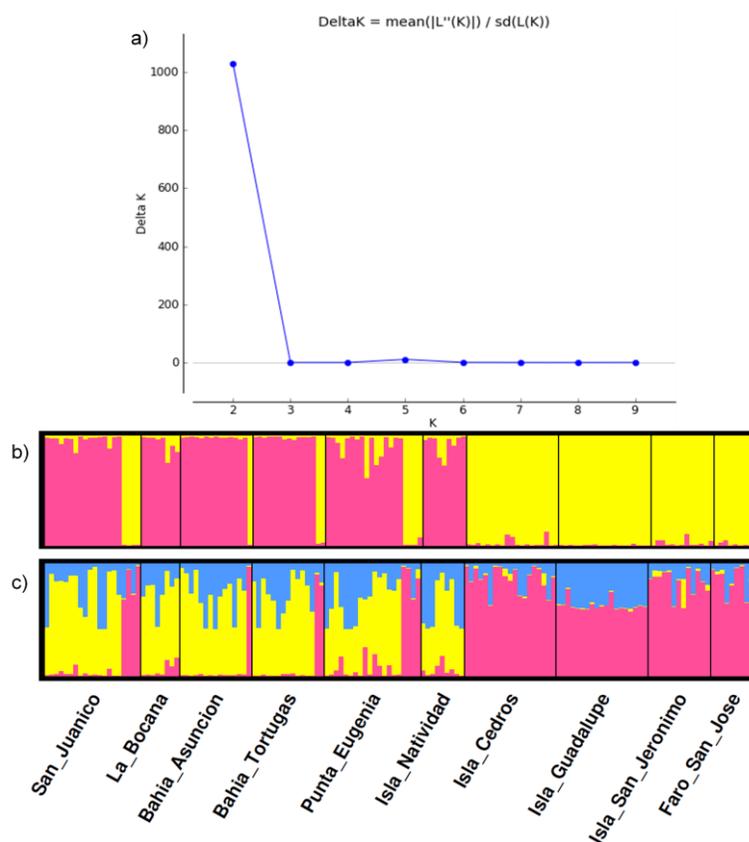
Donde: SJ = San Juanico, LB = La Bocana, BA = Bahía Asunción, BT = Bahía Tortugas, PE = Punta Eugenia, IN = Isla Natividad, IC = Isla Cedros, IG = Isla Guadalupe, ISJ = Isla San Jerónimo, FSJ = Faro San José.

En el caso del ADCP se observaron tres posibles agrupaciones: La primera en la región Sur y consistente con los análisis anteriores compuesta por las localidades de San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Punta Eugenia e Isla Natividad; una segunda agrupación en el Norte con las localidades de Isla Cedros, Isla San Jerónimo y Faro San José; y la tercera agrupación conformada solo por la localidad de Isla Guadalupe (Fig. 13).



**Figura 13.** Análisis discriminante de componentes principales (ADCP) para el abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) con el grupo de marcadores outliers obtenido por Arlequin v.3.5 de 37 *loci* con 25 componentes retenidos 2 *eigenvalues*.

El análisis de *clusters* con marcadores candidatos a selección obtenidos por el software Arlequin muestra en la figura 14 que el valor más probable encontrado mediante el método de Evanno es  $K = 2$ . De igual manera que con el grupo de marcadores candidatos a selección obtenidos por el método Bayesiano, se observó la misma separación entre las localidades del Sur, de San Juanico a Isla Natividad, y las del Norte a partir de Isla Cedros hasta Faro San José. Consistentemente, el análisis con una  $K = 3$  mantuvo esta separación y no se pareció una separación de la localidad de Isla Guadalupe.



**Figura 14.** Análisis de agrupamiento (*clusters*) del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) para el grupo de marcadores *outliers* obtenido por Arlequin v.3.5 de 37 *loci*. a) Número más probable de  $K$  utilizando el método de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) a partir del valor de delta  $K$  y la probabilidad de pertenencia individual (eje vertical) para: a) dos grupos ( $K = 2$ ) y, b) tres grupos ( $K = 3$ ). Las líneas negras indican la separación entre localidades.

Por último, en la tabla XVII se muestra a las cinco hipótesis de regionalización que fueron probadas mediante un AMOVA jerárquico para el grupo de marcadores *outliers* y se observó que el mayor porcentaje de la variación fue explicado por una subestructura al interior de las localidades, seguido de un porcentaje de variación explicado al interior de los individuos. Sin embargo, en estas pruebas hubo un mayor porcentaje de variación explicado por la fuente entre los grupos. Cabe señalar que el porcentaje de variación explicado entre grupos (24.55%) en la Hipótesis 1 (H1) fue significativo y fue el mayor porcentaje de variación observado entre todas las hipótesis para esta fuente de variación.

**Tabla XVII.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) jerárquico donde se probaron las cinco hipótesis de regionalización para el grupo de los 10 marcadores *outliers* compartidos entre los software Bayescan y Arlequin del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*).

Hipótesis	Fuente de Variación	g.l.	Índices de Fijación	% de Variación	P
<b>H1</b> Tres Poblaciones	Entre Grupos	2	$F_{CT}$ : 0.2455	24.55	0.0013
	Entre poblaciones dentro de los grupos	7	$F_{SC}$ : 0.0094	0.71	0.2956
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.5455	40.77	0
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : 0.6603	33.97	0
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H2</b> Sur vs Norte	Entre Grupos	1	$F_{CT}$ : 0.1988	19.88	0.0041
	Entre poblaciones dentro de los grupos	8	$F_{SC}$ : 0.0661	5.3	0.0014
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.5455	40.81	0
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : 0.6599	34.01	0
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H3</b> Islas vs Costeras	Entre Grupos	1	$F_{CT}$ : 0.0811	8.11	0.0748
	Entre poblaciones dentro de los grupos	8	$F_{SC}$ : 0.1374	12.63	0
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.5455	43.24	0
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : 0.6397	36.03	0
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H4</b> I. Gpe. Vs Península	Entre Grupos	1	$F_{CT}$ : 0.1294	12.94	0.0980
	Entre poblaciones dentro de los grupos	8	$F_{SC}$ : 0.1352	11.77	0
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.5269	39.67	0
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : 0.6438	35.62	0
	<b>Total</b>	<b>297</b>			
<b>H5</b> Áreas Administrativas	Entre Grupos	3	$F_{CT}$ : 0.1231	12.31	0.0272
	Entre poblaciones dentro de los grupos	6	$F_{SC}$ : 0.0863	7.57	0.0004
	Entre Individuos al interior de las poblaciones	139	$F_{IS}$ : 0.5455	43.7	0
	Al interior de los individuos	149	$F_{IT}$ : 0.6358	36.42	0
	<b>Total</b>	<b>297</b>			

En general, en este estudio se observó un patrón de estructuración poblacional con agrupaciones consistentes y con mayor precisión dependiendo del tipo de set de marcadores moleculares utilizados. En este sentido, el uso de marcadores globales (1,796 SNPs) denotó la presencia de estructuración compuesta por tres grupos: 1) Isla Guadalupe; 2) Isla Cedros, Faro San José e Isla San Jerónimo; 3) San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas, Isla Natividad y Punta Eugenia.

No obstante, los marcadores neutrales (1,733 SNPs) revelaron dos grupos: 1) Isla Guadalupe y 2) las localidades costeras, donde se apreció un gradiente latitudinal de norte a sur con dos agrupaciones aparentes: a) Isla San Jerónimo, Faro San José e Isla Cedros y b) San Juanico, La Bocana, Bahía Asunción, Bahía Tortugas y las localidades de Isla Natividad y Punta Eugenia que presentaron un alto grado de mezcla. Por otro lado, mediante los marcadores candidatos a selección (*outliers*) se delimitaron dos grupos, uno al norte y otro al sur de la costa occidental de la península de Baja California: 1) Isla San Jerónimo, Faro San José, Isla Guadalupe, Isla Cedros; 2) Punta Eugenia, Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico.

## 8. DISCUSIÓN

El presente estudio sobre el recurso abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) a lo largo de la costa occidental de la península de Baja California mostró evidencias de estructura genómico poblacional distinta a *panmixia*. El principal reto fue incorporar las técnicas de secuenciación masiva y los marcadores moleculares SNPs para la identificación de unidades poblacionales y generar información complementaria a lo reportado previamente para esta pesquería (Díaz-Viloria *et al.*, 2009; Munguía-Vega *et al.*, 2015).

### 8.1 Parametrización y obtención de genotipos

La obtención de genotipos, derivados de los métodos basados en enzimas de restricción como *ddRAD-seq* para estudios en genómica poblacional, es un proceso bioinformático conformado de un conjunto de módulos que requieren de parámetros para generar un ensamble óptimo de un set de *loci* (París *et al.*, 2017). Actualmente, existen varios protocolos y softwares como PyRAD (Eaton, 2014), AftRAD (Sovic *et al.*, 2015), TASSEL (Glaubitz *et al.*, 2014) y dDocent (Puritz *et al.*, 2013) destinados a este proceso. Sin embargo, en el caso del presente estudio empleamos el software *Stacks*, ya que es de los más utilizados recientemente pues su protocolo permite el procesamiento de datos de especies no modelo mediante su función *denovo\_map.pl* y la realización de pruebas a los parámetros de manera sencilla y eficiente en el tiempo de obtención de dichos genotipos (Catchen *et al.*, 2013).

A grandes rasgos, uno de los parámetros críticos es el que se encarga de controlar el nivel de disimilitud entre las secuencias (o *stacks*) que forman *loci* ( $M$ ), el cual se determina en el módulo *Ustacks* en el protocolo de *Stacks*. Por lo tanto, las pruebas de parametrización se realizaron variando los valores de  $M$  para identificar su valor óptimo, fijando los valores de los parámetros  $m$  (5) y  $n$  (4)

siguiendo las recomendaciones de Rochette y Catchen (2017) y el ejemplo de otros estudios (Miller *et al.*, 2016; Rodríguez-Ezpeleta *et al.*, 2016). Sin embargo, en comparación con estudios similares (Anexo B; Attard *et al.*, 2017; Benestan *et al.*, 2015; Catchen *et al.*, 2011; Drinan *et al.*, 2018; Kobayashi *et al.*, 2018; Miller *et al.*, 2016; Sáenz-Agudelo *et al.*, 2015; Tariel *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2018), donde los valores de  $m$  y  $n$  mayormente usados son de 3 y 2 respectivamente, los valores de ambos parámetros utilizados en este estudio son considerados más estrictos al permitir menos cantidad de discordancias (París *et al.*, 2017).

De esta manera, se determinó que el valor óptimo del parámetro  $M$  para discriminar entre *loci* fue tres, valor consistente dentro del rango para dicho parámetro ( $M$ : 2-4) y que es suficientemente estricto en comparación con  $M$  2, utilizado frecuentemente en diversos estudios de genómica poblacional en especies marinas. (Anexo B; Combosch y Vollmer, 2015; Díaz-Arce *et al.*, 2016; Dibattista *et al.*, 2017; Flanagan *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2015; Hale *et al.*, 2013; Kess *et al.*, 2016; Monal *et al.*, 2016; Paterno *et al.*, 2017; Peng Ren *et al.*, 2016; Pfeiffer *et al.*, 2017; Rodríguez-Ezpeleta *et al.*, 2016; Valenzuela-Muñoz *et al.*, 2013).

Por último, regularmente se emplean valores de  $r$  y  $p$  en el rango de 70 % - 80 % y 50 % - 80 % respectivamente (Anexo B; Carreras *et al.*, 2017; Sáenz-Agudelo *et al.*, 2015; Sandoval-Castillo *et al.*, 2018; Wyngaarden *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2018), en este caso los parámetros poblacionales empleados para la obtención de los genotipos fueron  $r$  (80%) y  $p$  (90%) muy similar a lo utilizado por Tariel *et al.* (2016), que utilizó valores del 100% para ambos parámetros consiguiendo un criterio más estricto y como resultado una base de genotipos sólida, es decir, estos parámetros favorecen la presencia del total de *loci* identificados durante el proceso en el 80% de los individuos y en el 90% de las localidades muestreadas.

## 8.2 Detección de marcadores candidatos a selección, *outliers*

El uso de más de un método de detección de *outliers*, con enfoques analíticos distintos, es una práctica recurrente en los estudios de genómica poblacional que permite una evaluación más precisa del efecto de la selección natural en la determinación de adaptaciones locales (Hess *et al.*, 2013; Monal *et al.*, 2015; Drinan *et al.*, 2018; Mullins *et al.*, 2018).

En este sentido, se utilizaron dos métodos de detección de *outliers*, el primero identificó 10 marcadores candidatos a selección mediante Bayescan (Foll y Gaggiotti, 2008) y el segundo 32 marcadores por Arlequin v. 3.5 (Excoffier y Lischer, 2015), de los cuales 10 fueron identificados previamente por Bayescan.

Si bien el método de detección de marcadores candidatos a selección o *outliers* implementado en Bayescan (Foll y Gaggiotti, 2008) ha probado ser de los más eficientes en la identificación de dichos marcadores, así como en la obtención de una menor tasa de falsos positivos (Narum y Hess, 2011), es necesario mencionar que los resultados de los análisis de estructuración poblacional derivados de ambos métodos fueron consistentes entre sí.

Una de las consecuencias del método implementado por Bayescan es la representación de los marcadores candidatos a selección y que en el caso de este estudio fue del 0.56% con respecto al total de SNPs. Sin embargo, esta proporción de marcadores candidatos a selección es común en estudios previos donde se ha probado su efectividad en la determinación de estructura poblacional con porcentajes en un rango de 0.2% a 5% en especies marinas como la langosta americana *Homarus americanus* con 0.2% (Benestan *et al.*, 2016), el copépodo plantónico *Centropages typicus* con 0.59% (Blanco-Bercial y Bucklin, 2016), un pez endémico del mar Mediterráneo *Symphodus tinca* con 0.46% (Carreras *et al.*, 2017), la almeja *Placopecten magellanicus* con 1.6% (Wyngaarden *et al.*, 2017) y

el abulón *Haliotis laevigata* con 3.55% (Sandoval-Castillo *et al.*, 2018). Por lo tanto, el 0.56% obtenido en el presente estudio es un porcentaje válido para identificar y delimitar grupos con potencial adaptativo apropiadamente en el área de estudio.

### 8.3 Estructura genómico-poblacional

En primera instancia, la estructura genómico-poblacional del abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) encontrada por el total de marcadores develó la presencia de tres grupos, los cuales fueron consistentes con lo generado por los marcadores neutrales. De esta manera, se observó un grupo conformado por la localidad de Isla Guadalupe separado del resto de las localidades costeras donde se diferenciaron dos grupos a causa de un gradiente latitudinal de norte a sur: los dos grupos de las localidades costeras se conformaron por las localidades de Isla Cedros, Faro San José e Isla San Jerónimo al norte y las localidades de Punta Eugenia, Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico al sur de la Península de Baja California. Es necesario resaltar que las localidades de Isla Natividad y Punta Eugenia presentaron el mayor grado de mezcla al centro de la península.

Consistentemente, el agrupamiento de la zona sur de la península ya ha sido reportado previamente en estudios de genética poblacional tanto por Díaz-Viloria *et al.* (2009) y Munguía-Vega *et al.* (2015) para el abulón amarillo mediante microsatélites a partir de muestras de las localidades de Isla Cedros, Isla Natividad, La Bocana, Punta Abrejos y San Juanico. Además, ambos estudios encontraron una separación de dicho grupo con una localidad del estado de California, EEUU, dando indicios de la posible existencia de otro agrupamiento en la región norte de la distribución de la especie aunque sin una delimitación espacial clara debido a la ausencia de muestras provenientes de sitios de la costa Occidental del estado de Baja California. De manera similar, dicha separación adjudicada a un efecto de aislamiento por distancia se asemeja a la diferenciación

encontrada entre Isla Guadalupe con el resto de las localidades en el presente trabajo. Aunque la prueba de Mantel no haya sido significativa, los análisis de  $F_{st}$ , de Componentes Principales Discriminante (ADCP), de *clusters* (Structure) y la diferencia significativa de diversidad ( $H_e$ ) entre Isla Guadalupe y las localidades costeras proporcionan suficiente información para proponer que el aislamiento genético entre Isla Guadalupe y el resto de las localidades costeras de la Península de Baja California se debe a la distancia que existe entre ellas.

Adicionalmente, Munguía-Vega *et al.* (2015) encontró evidencia de un nivel de aislamiento genético bajo entre la localidad de Isla Cedros con respecto a las localidades de Isla Natividad, La Bocana y Punta Abreojos. Esta evidencia es respaldada por el presente estudio a partir del gradiente latitudinal encontrado y que se acentúa al límite entre Isla Cedros y las localidades de Punta Eugenia e Isla Natividad, mostrando la presencia de dos grupos en la Península de Baja California.

La conformación de dos grupos espacialmente extensos podría obedecer a la alta conectividad al interior de cada uno de ellos y la diferenciación asociada al gradiente latitudinal podría ser efecto de la dispersión larval resultante de los patrones de corrientes marinas de larga distancia como se ha observado en otras especies de abulones (Miyake *et al.*, 2010, 2017; Park *et al.*, 2012). Particularmente, la temporada reproductiva del abulón amarillo presenta su mayor actividad en verano y otoño en la región norte (Tutschulte y Connell, 1981), coincidiendo con la temporada de mayor influencia de la Corriente de California en el área de la costa Occidental de la Península de Baja California y generando dicho gradiente latitudinal con sentido de norte a sur para dar lugar a la conformación del grupo norte, mientras que la acción de la contracorriente del Sistema de la Corriente de California y las masas de agua de la corriente Nor-Ecuatorial que se observan principalmente durante el otoño e invierno explicarían

el agrupamiento de las muestras pertenecientes a las localidades de la región sur de la península (Durazo *et al.*, 2015; Lynn y Simpson, 1987).

En este sentido, los resultados obtenidos en el actual estudio respaldan lo sugerido por Munguía-Vega *et al.* (2015) en cuanto a que el límite entre los grupos norte y sur se encuentra en el canal presente entre Isla Cedros e Isla Natividad, que es la zona donde convergen ambos sistemas de corrientes y donde influyen la península de El Vizcaíno y giros *Eddy* (Lynn y Simpson, 1987), así como la presencia del Centro de Actividad Biología de Punta Eugenia (Lluch-Belda *et al.*, 2000), estableciendo una frontera oceanográfica entre ambos grupos.

Además, es necesario señalar que para el caso del grupo de la región sur de la península los patrones de la contracorriente del Sistema de California y la corriente Nor-Ecuatorial empatan con la época reproductiva y de desove descritas para el abulón amarillo entre los meses de Agosto y Noviembre (Ortíz-Quintanilla *et al.*, 1990). Aunado a esto, se tiene registrado que la duración del desarrollo de la larva trocófora varía entre los 3 y 17 días, mismos que pasa en suspensión en la columna de agua y expuesta a las corrientes marinas hasta asentarse en el fondo (Leighton, 1974), lo que explicaría la alta conectividad registrada también por Munguía-Vega *et al.* (2015) y Díaz-Viloria *et al.* (2009), así como para el abulón azul por Gutiérrez-González *et al.* (2007), con el que comparte ésta área de distribución.

Ahora bien, en cuanto a la estructura genómico poblacional generada a partir de marcadores moleculares candidatos a selección se delimitaron dos grupos específicos, uno al norte conformado por las localidades de Isla San Jerónimo, Isla Guadalupe, Faro San José e Isla Cedros, y otro al sur constituido por las localidades de Punta Eugenia, Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico. La única diferencia entre la estructura obtenida a partir de

marcadores neutrales y marcadores candidatos a selección es la incorporación de Isla Guadalupe al grupo norte.

El límite geográfico entre ambos grupos específicos no solo es consistente con lo encontrado por los marcadores neutrales, también coinciden con las características ambientales predominantes en sus zonas de distribución. De acuerdo con los resultados obtenidos por Durazo (2015), se distinguen dos provincias o regiones a lo largo de la costa Occidental de la Península de Baja California: una al norte y otra al sur de Punta Eugenia. En primer lugar, la región norte presenta temperaturas frías y baja salinidad predominantemente a lo largo del año como resultado de la constante influencia de la Corriente de California. En contraste, la región sur presenta variaciones climáticas definidas en dos temporadas: una fría en concordancia con la región norte durante invierno y primavera y otra cálida durante el verano y otoño, ocasionada por la influencia de masas de agua tropicales y subtropicales provenientes de la Corriente Nor-Ecuatorial. Además, al interior de la región sur se presenta, tanto una contracorriente como el Centro de Actividad Biológica en la zona del Golfo de Ulloa (Lluch-Belda *et al.*, 2000), que mantiene una dinámica de corrientes costeras constante, pero más intensa durante el otoño y favorece la prevalencia de temperaturas más cálidas que las aguas del norte durante todas las estaciones del año excepto primavera.

Las diferencias en la temperatura y otras condiciones ambientales como la salinidad podrían verse reflejadas en la formación de estos grupos específicos, pues se ha observado que juegan un papel importante para los abulones durante su desarrollo (Leighton, 1974) y procesos fisiológicos (Medina-Romo *et al.*, 2010). Algunos ejemplos que respaldarían estos resultados son los estudios en genómica poblacional realizados por De Wit y Palumbi (2013) y Sandoval-Castillo *et al.* (2018), quienes registraron la influencia de dichos factores ambientales en el abulón rojo (*Haliotis rufescens*) en California y en el abulón de Australia (*Haliotis*

*laevigata*), respectivamente. En el caso de estudio del abulón rojo se observó una ligera diferenciación entre la parte norte del estado de California y Bahía Monterey relacionada a la selección de *loci* involucrados en procesos de biomineralización, resistencia a la hipoxia, respuesta a temperaturas cálidas y a patógenos, mientras que en el caso del abulón de Australia se registró una delimitación de cinco grupos específicos más clara con base en *loci* involucrados en una respuesta metabólica relacionada a altas temperaturas y bajas concentraciones de oxígeno.

Los grupos específicos con potencial adaptativo delimitados por características oceanográficas y posiblemente relacionados con la temperatura y/o salinidad a lo largo de un gradiente latitudinal es un patrón consistente observado en otras especies marinas a lo largo del mundo, principalmente para peces, tales como, los casos expuestos por Bradbury *et al.* (2010) con el bacalao, Limborg *et al.* (2012) con el arenque (*Clupea harengus*), Milano *et al.* (2014) con la merluza (*Merluccius merluccius*), Guo *et al.* (2015) con el pez *Gasterosteus aculeatus*, y Benestan *et al.* (2015; 2016) para la langosta americana (*Homarus americanus*), entre otros.

No obstante, el presente estudio se limita a la identificación de estructura poblacional, por lo que la asociación genoma-ambiente se propone a futuro.

#### 8.4 Implicaciones en la administración del recurso abulón amarillo

La estructura genómico poblacional neutral y los grupos con potencial adaptativo identificados en el presente trabajo mostraron una discordancia con las áreas administrativas dispuestas para el manejo del recurso marino abulón amarillo en la costa Occidental de la Península de Baja California.

En primer lugar, la estructura genómico poblacional neutral indica la presencia de dos grupos dentro del área administrativa I, la cual se extiende desde Isla Coronados hasta Isla Cedros: uno de los grupos corresponde a la localidad de Isla

Guadalupe y el otro a las localidades de Isla San Jerónimo, Faro San José e Isla Cedros, constituyendo el grupo norte. Por otra parte, el grupo del sur, que se compone de las localidades de Punta Eugenia, Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico, abarca las áreas administrativas II, III y IV (Prince y Guzmán del Prío, 1993; Ramade-Villanueva *et al.*, 1998).

De acuerdo con Ying *et al.* (2011), el panorama actual de la estructura poblacional neutral expondría dos problemáticas. En primer lugar, el desconocimiento de la presencia de dos poblaciones al interior del área administrativa I, a) Isla Guadalupe y b) Isla San Jerónimo, Faro San José e Isla Cedros, ocasionaría que, tanto abundancias como la productividad de cada población y sus respectivas fluctuaciones fueran descritas de manera inexacta, y se dificultaría el tratar de identificar poblaciones vulnerables. Por otra parte, se desconocía que las localidades pertenecientes a cada una de las áreas administrativas II, III y IV conforman solo una porción de una población mayor, esta nueva información podría tomarse en cuenta para futuras evaluaciones de la dinámica poblacional. Ambos tipos de problemáticas han sido previamente observadas y reportadas por Mullins *et al.* (2018) para el atún de aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en costas de Sudáfrica y generaron información suficiente para determinar que la imprecisión espacial de las áreas administrativas con respecto a la estructura poblacional conocida para dicho recurso debía ser modificada para atender de manera específica las necesidades de dos agrupamientos: uno correspondiente a las costas de Sudáfrica del Atlántico y otro perteneciente al Océano Índico que anteriormente eran considerados como una sola unidad de manejo.

En cuanto a los grupos específicos con potencial adaptativo, obtenidos a partir de los marcadores candidatos a selección, se determinó que el grupo del norte constituido por las localidades de Isla Guadalupe, Isla San Jerónimo, Faro San José e Isla Cedros coincide con el área administrativa I, pero el grupo sur conformado por las localidades de Punta Eugenia, Isla Natividad, Bahía Tortugas,

Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico, ocupa una extensión espacial que corresponde a las áreas administrativas II, III y IV (Prince y Guzmán del Prío, 1993; Ramade-Villanueva *et al.*, 1998). Por su parte, Sandoval-Castillo *et al.* (2018) sentaron un precedente en términos de manejo al ser un estudio considerado para la implementación de políticas de manejo del abulón *Haliotis laevigata* en Australia bajo un programa específico denominado "Plan de Manejo Genético", que entre otras medidas propone el monitoreo y mantenimiento de los grupos con potencial adaptativo con el fin de conservar y aprovechar el recurso para acuicultura y repoblamiento. De esta manera, medidas similares podrían implementarse para el manejo del abulón amarillo gracias a la delimitación de los grupos genéticos con potencial adaptativo en la costa Occidental de Baja California, fortaleciendo principalmente las actividades de monitoreo y repoblamiento para favorecer la tendencia a la recuperación de los stocks del recurso.

En este sentido, el presente estudio generó información que se suma a lo observado anteriormente por Díaz-Viloria *et al.* (2009) y Munguía-Vega *et al.* (2015), aportando evidencias de una estructuración neutral asociada a un gradiente latitudinal posiblemente influenciado por efecto de las corrientes marinas y dos grupos con adaptaciones locales potenciales resultantes del ciclo de vida del abulón amarillo y la influencia de la variación de factores ambientales como la temperatura, derivando en unidades biológicas que no coincidieron con las áreas administrativas. Con esta información es posible replantear estrategias de manejo enfocadas a la modificación espacial de las áreas administrativas, así como la inclusión de los grupos con potencial adaptativo dentro de la regulación vigente con el objetivo de un mejor aprovechamiento del recurso en la costa Occidental de la Península de Baja California.

Finalmente, dar continuidad a este tipo de estudios al incorporar una mayor cantidad de localidades de muestreo con el fin de tener mayor representación espacio-temporal e incluir al análisis información ambiental para profundizar en temas de paisaje genómico marino relacionado con la estructuración poblacional permitirá evaluar la respuesta del abulón amarillo a presiones selectivas del mismo modo que se ha observado en otros estudios realizados en el mundo, como es el caso de Therkildsen *et al.* (2013) con el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*), quienes a pesar de un declive en la pesquería de este recurso encontraron agrupaciones con potencial adaptativo que responden de manera independiente y rápidamente a cambios de presión selectiva, influyendo directamente en modelos predictivos para su manejo.

## 9. CONCLUSIONES

- Se determinó que la estructura genómico poblacional en la costa Occidental de la Península de Baja California del abulón amarillo (*H. corrugata*) es distinta de *panmixia* por medio de marcadores moleculares tipo SNPs.
- La estructura genómico poblacional neutral develó la presencia de dos poblaciones claramente definidas: una correspondiente a la localidad de Isla Guadalupe y otra constituida por el resto de localidades de la Península de Baja California (PBC). Las localidades costeras de la PBC se encuentran divididas mediante un gradiente latitudinal en una población norteña constituida por las localidades de Isla San Jerónimo, Faro San José e Isla Cedros y otra sureña compuesta por las localidades de Punta Eugenia, Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico.
- El análisis de aislamiento por distancia no fue significativo a pesar de encontrar un gradiente latitudinal de diferenciación poblacional con marcadores moleculares neutrales.
- Se determinaron dos grupos específicos con potencial adaptativo mediante marcadores moleculares candidatos a selección en la costa Occidental de la Península de Baja California: uno al norte constituido por las localidades de Isla San Jerónimo, Isla Guadalupe, Faro San José e Isla Cedros y otro al sur conformado por las localdiades de Punta Eugenia, Isla Natividad, Bahía Tortugas, Bahía Asunción, La Bocana y San Juanico.
- La frontera geográfica entre los grupos del norte y sur identificados tanto por marcadores moleculares neutrales como candidatos a selección se localizó entre las localidades de Isla Cedros e Isla Natividad a nivel de la zona de Punta Eugenia.

## 10. LITERATURA CITADA

Aguilar-Rosas L., R. Aguilar-Rosas. 1993. Ficogeografía de las Algas Pardas (Phaeophyta) de la Península de Baja California. Biodiversidad Marina y Costera de México. Com. Nat. Bioiversidad y CIQRO. México. 194-205.

Aljanabi S. M., I. Martínez. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.* 25:4692–4693.

Allendorf F. W., G. Luikart. 2007. *Genetics and the Conservation of Populations*. Blackwell Publishing. Primera Edición. Malden, Massachusetts. 642p.

Als T. D., M. M. Hansen, G. E. Maes, M. Castonguay, L. Riemann, K. Aarestrup, P. Munk, H. Sparholt, R. Hanel, L. Bernatchez. 2011. All roads lead to home: panmixia of European eel in the Sargasso Sea. *Mol. Ecol.* 20:1333–1346.

Amador-Buenrostro, A., M.L. Argote-Espinoza, M. Mancilla-Peraza, M. Figueroa-Rodríguez. 1995. Variaciones de período corto de la circulación anticiclónica en Bahía Vizcaíno, B.C. *Cienc. Mar.* 21(2):201-223.

Attard C. R. M., C. J. Brauer, J. Sandoval-Castillo, L. K. Faulks, P. J. Unmack, D. M. Gilligan, L. B. Beheregaray. 2018. Ecological disturbance influences adaptive divergence despite high gene flow in golden perch (*Macquaria ambigua*): Implications for management and resilience to climate change. *Mol. Ecol.* 27:196–215.

Beaumont M. A., D. J. Balding. 2004. Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans. *Mol. Ecol.* 13:969–980.

Beerli P., M. Palczewski. 2010. Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. *Genetics.* 185:313–326.

Beheregaray L. B., L. V. Pfeiffer, C. R. M. Attard, J. Sandoval-Castillo, F. M. C. B. Domingos, L. K. F., D. M. Gilligan, P. J. Unmack. 2017. Genome-wide data delimits multiple climate-determined species ranges in a widespread Australian fish, the golden perch (*Macquaria ambigua*). *Mol Phylogenet. Evol.* 111:65–75.

Benestan L., T. Gosselin, C. Perrier, B. Sainte-Marie, R. Rochette, L. Bernatchez. 2015. RAD genotyping reveals fine-scale genetic structuring and provides powerful population assignment in a widely distributed marine species, the American lobster (*Homarus americanus*). *Mol. Ecol.* 24:3,299–3,315.

Benestan L., B. K. Quinn, H. Maaroufi, M. Laporte, F. K. Clark, S. J. Greenwood, R. Rochette, L. Bernatchez. 2016. Seascape genomics provides evidence for

thermal adaptation and current-mediated population structure in American lobster (*Homarus americanus*). *Mol. Ecol.* 25:5073–5092.

Berg P. R., B. Star, C. Pampoulie, I. R. Bradbury, P. Bentzen, J. A. Hutchings, S. Jentoft, K. S. Jakobsen. 2017. Trans-oceanic genomic divergence of Atlantic cod ecotypes is associated with large inversions. *Heredity.* 119:418–428.

Bernatchez L., M. Wellenreuther, C. Araneda, D. T. Ashton, J. M.I. Barth, T. D. Beacham, G. E. Maes, J. T. Martinsohn, K. M. Miller, K. A. Naish, J. R. Ovenden, C. R. Primmer, H. Y. Suk, N. O. Therkildsen, R. E. Withler. 2017. Harnessing the Power of Genomics to Secure the Future of Seafood. *Trends Ecol. Evol.* 32:665–680.

Black W. C., C. F. Baer, M. F. Antolin, N. M. DuTeau. 2001. Population genomics: genome-wide sampling of insect populations. *Annu. Rev. Entomol.* 46:441–469.

Blanco-Bercial L., A. Bucklin. 2016. New view of population genetics of zooplankton: RADseq analysis reveals population structure of the North Atlantic planktonic copepod *Centropages typicus*. *Mol. Ecol.* 25:1566–1580.

Bradbury I. R., S. Hubert, B. Higgins, T. Borza, S. Bowman, I. G. Paterson, P. V. R. Snelgrove, C. J. Morris, R. S. Gregory, D. C. Hardie, J. A. Hutchings, D. E. Ruzzante, C. T. Taggart, P. Bentzen. 2010. Parallel adaptive evolution of Atlantic cod on both sides of the Atlantic Ocean in response to temperature. *Proc. R. Soc. B.* 277:3725–3734.

Carreras C., V. Ordóñez, L. Zane, C. Kruschel, I. Nasto, E. Macpherson, M. Pascual. 2017. Population genomics of an endemic Mediterranean fish: differentiation by fine scale dispersal and adaptation. *Scie. Rep-UK.* 1-12.

Cassone B. J., E. G. Boulding. 2006. Genetic structure and phylogeography of the lined shore crab, *Pachygrapsus crassipes*, along the northeastern and western Pacific coasts. *Mar. Biol.* 149:213–226.

Catchen J., P. A. Hohenlohe, S. Bassham, A. Amores, W. A. Cresko. 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Mol. Ecol.* 22:3124–3140.

Catchen J. M., A. Amores, P. Hohenlohe, W. Cresko, J. H. Postlethwait. 2011. Stacks: building and genotyping *loci de novo* from short-read sequences. *G3(1)*:171–182.

Cervantes-Duarte R., R. Prego, G. Gaxiola-Castro, S. López-López, F. Aguirre-Bahena, I. Murillo-Murillo. 2015. Intra-annual upwelling patterns and its linkage with primary production in the euphotic zone (24.5°N) of Southern Baja California coast. Elsevier. *Estuar. Coast. Shelf S.* 157:51-58.

Combosch D. J., S. V. Vollmer. 2015. Trans-Pacific RAD-Seq population genomics confirms introgressive hybridization in Eastern Pacific Pocillopora corals. *Mol. Phylogenet. Evol.* 88:154–162.

Danecek P., A. Auton, G. Abecasis, C. A. Albers, E. Banks, M. A. DePristo, R. Handsaker, G. Lunter, G. Marth, S. T. Sherry, G. McVean, R. Durbin, 1000 Genomes Project Analysis Group. 2011. The Variant Call Format and VCFtools. *Bioinformatics.* 2156-2158.

Davey J. W., P. A. Hohenlohe, P. D. Etter, J. Q. Boone, J. M. Catchen, M. L. Blaxter. 2003. Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat. Rev. Genet.* 4:981-994.

Del Río-Portilla, M. A., J. G. González-Avilés. 2001. Population genetics of the yellow abalone, *Haliotis corrugata*, in Cedros and San Benitos islands: a preliminary survey. *J. Shellfish Res.* 20:765–770.

De Wit P., S. R. Palumbi. 2013. Transcriptome-wide polymorphisms of red abalone (*Haliotis rufescens*) reveal patterns of gene flow and local adaptation. *Mol. Ecol.* 22:2884–2897.

Díaz-Arce N., H. Arrizabalaga, H. Murua, X. Irigoien, N. Rodríguez-Ezpeleta. 2016. RAD-seq derived genome-wide nuclear markers resolve the phylogeny of tunas. *Mol. Phylogenet. Evol.* 102:202–207.

Díaz F., A. D. Re, Z. Medina, G. Re, G. Valdez, F. Valenzuela. 2006. Thermal preference and tolerance of green abalone *Haliotis fulgens* (Pfilippi, 1845) and pink abalone *Haliotis corrugata* (Gray, 1828). *Aquac. Res.* 37:877-884.

Díaz-Viloria N., P. Cruz, S. A. Guzmán-Del Prío, R. Perez-Enriquez. 2009. Genetic Connectivity Among Pink Abalone *Haliotis corrugata* Populations. *J. Shellfish Res.* 28(3):599-608.

Díaz-Viloria N., R. Perez-Enriquez, P. Cruz-Hernández, D. Aguilar-Osuna. 2013. Herencia mendeliana en microsatélites de abulón amarillo *Haliotis corrugata*. *Interciencia.* 38:455-460.

Drinan D. P., K. M. Gruenthal, M. F. Canino, D. Lowry, M. C. Fisher, L. Hauser. 2018. Population assignment and local adaptation along an isolation-by-distance gradient in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Evol. Appl.* 11:1448–1464.

Durazo R. 2015. Seasonality of the transitional region of the California Current System off Baja California. *J. Geophys. Res-Oceans.* 120:1173–1196.

Eaton D. A. R. 2014. PyRAD: assembly of *de novo* RADseq loci for phylogenetic analyses. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 30:1844–1849.

Excoffier L., H. Lischer. 2015. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Institute of Ecology and Evolution (IEE) University of Berne. Bern Switzerland. 176.

Excoffier L., P. E. Smouse, J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics.* 131:479–491.

Fernández-Eguiarte A., A. Gallegos-García, J. Zavala-Hidalgo. 1993. Oceanografía física de México. *Ciencia y Desarrollo.* Enero-Febrero. 24-35.

Flanagan S. P., E. Rose, A. G. Jones. 2016. Population genomics reveals multiple drivers of population differentiation in a sex-role-reversed pipefish. *Mol. Ecol.* 25:5043–5072.

Foll M., O. Gaggiotti. 2008. A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics.* 180:977–993.

Forester B. R., M. R. Jones, S. Joost, E. L. Landguth, J. R. Lasky. 2016. Detecting selection in natural populations: Making sense of genome scans and towards alternative solutions. Detecting spatial genetic signatures of local adaptation in heterogeneous landscapes. *Mol. Ecol.* 25:105-120.

Frankham R., J. D. Ballou, D. A. Briscoe. 2004. Chapter 3: Migration and gene flow. *A Primer of Conservation Genetics.* Cambridge University Press. 220.

Glaubitz J. C., T. M. Casstevens, F. Lu, J. Harriman, R. J. Elshire, Q. Sun, E. S. Buckler. 2014. TASSEL-GBS: a high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *Plos One.* 9(2):e90346.

Grant W. S., W. Cheng. 2012. Incorporating deep and shallow components of genetic structure into the management of Alaskan red king crab. *Evol. Appl.* 820–837.

Guo B., J. DeFaveri, G. Sotelo, A. Nair, J. Merilä. 2015. Population genomic evidence for adaptive differentiation in Baltic Sea three-spined sticklebacks. *BMC Biology.* 13:19.

Gutiérrez-González J. L., P. Cruz, M. A. Del Rio-Portilla, R. Pérez-Enríquez. 2007. Genetic Structure of Green Abalone *Haliotis fulgens* Population off Baja California, México. *J. Shellfish Res.* 26(3):839–846.

Guzmán del Prío S. A., S. De la Campa de Guzmán, J. Pineda-Barrera. 1972. Flora macroscópica asociada a los bancos de abulón (*Haliotis spp.*) en algunas áreas de la costa occidental de Baja California. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico-Pesqueras. Memoria IV Congreso Nac. Ocean. México. 257-265.

Guzmán del Prío S. A., E. Serviere-Zaragoza, D. Siqueiros-Beltrones. 2003. Natural diet of juvenile abalone *Haliotis fulgens* and *H. corrugata* (Mollusca: Gastropoda) in Bahía Tortugas, Mexico. Pac. Sci. 57(3):319-324.

Guzmán del Prío S. A., J. M. Borges-Souza. 2016. Distribución espacial de abulón (*Haliotis Fulgens* y *H. Corrugata*) y su variación en el tiempo; implicaciones para su manejo. Oceánides. 31(2):35-44.

Hale. M. C., F. P. Thrower, E. A. Berntson, M. R. Miller, K. M. Nichols. 2013. Evaluating adaptative divergence between migratory and nonmigratory ecotypes of a salmonid fish, *Oncorhynchus mykiss*. G3-Genes Genom. Genet. 3:1273-1285.

Hawkins S. J., K. Bohna, D. W. Simsa, P. Ribeiroc, J. Fariae, P. Presag, A. Pitag, G. M. Martinse, A. I. Netoe, M. T. Burrowsh y M. J. Genneri. 2016. Fisheries stocks from an ecological perspective: Disentangling ecological connectivity from genetic interchange. Fish. Res. 179:333–341.

Hedgecock D., P. H. Barber, S. Edmands. 2007. Genetic Approaches to Measuring Connectivity. Oceanography. 20(3):70-79.

Hernández-Carmona G., Y. E. Rodríguez-Montesinos, J. R. Torres-Villegas, I. Sánchez-Rodríguez, M. A. Vilchis. 1989. Evaluación de los mantos de *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta, Laminariales) en Baja California, México. I. Invierno 1985-1986. Cienc. Mar. 12(2):1-27.

Hess J. E., N. R. Campbell, D. A. Close, M. F. Docker, S. R. Narum. 2013. Population genomics of Pacific lamprey: adaptive variation in a highly dispersive species. Mol. Ecol. 22:2898–2916.

Höglund J. 2009. Chapter 3: Inbreeding, geographic subdivision and gene flow. En: Höglund J (ed.). Evolutionary Conservation Genetics. Oxford University Press Inc. Primera Edición. Estados Unidos de América. pp 37-59.

Jenkins T. L., J. R. Stevens. 2018. Assessing connectivity between MPAs: Selecting taxa and translating genetic data to inform policy. Mar. Policy. 94:165–173.

- Jombart T., Devillard S., Balloux F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*. 11:94.
- Kelley. J. L., A. P. Brown, N. O. Therkildsen, A. D. Foote. 2016. The life aquatic: advances in marine vertebrate genomics. *Nat. Rev. Genet.* 17:523-534.
- Kess T., J. Gross, F. Harper, E. G. Boulding. 2016. Low-cost ddRAD method of SNP discovery and genotyping applied to the periwinkle *Littorina saxatilis*. *J. Mollus. Stud.* 82:104–109.
- Kobayashi H., Y. Hainoa, T. Iwasakib, A. Tezukac, A. J. Naganoc, S. Shimada. 2018. ddRAD-seq based phylogeographic study of *Sargassum thunbergii* (Phaeophyceae, Heterokonta) around Japanese coast. *Mar. Environ. Res.* 1-10.
- Krück N. C., D. I. Innes, J. R. Ovenden. 2013. New SNP's for population genetic analysis reveal possible cryptic speciation of eastern Australian sea mullet (*Mugil cephalus*). *Mol. Ecol.* 1-11.
- Lischer H. 2018. An automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. Institute of Ecology and Evolution (IEE) University of Berne. Bern Switzerland. 178pp.
- Leighton D. L. 1974. The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalones. *Fish. Bull. (Wash. D.C.)*. 72:1137–1145.
- Limborg M. T., S. J. Helyar, M. De Bruyn, M. I. Taylor, E. E. Nielsen, R. Ogden, G. R. Carvalho, FPT Consortium, D. Bekkevold. 2012. Environmental selection on transcriptome-derived SNPs in a high gene flow marine fish, the Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Mol. Ecol.* 1-18.
- Lluch-Belda D. 2000. Capítulo 4: Centros de Actividad Biológica en la Costa Occidental de Baja California. En: Lluch-Belda D., J. Elorduy-Garay, S.E. Lluch-Cota, G. Ponce-Díaz. 2000. BAC Centros de Actividad Biológica del Pacífico mexicano. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Primera Edición. La Paz, Baja California Sur, México. pp 49-64.
- Lowe W. H., R. P. Kovach, F. W. Allendorf. 2017. Population genetics and demography unite ecology and evolution. *Trends Ecol. Evol.* 32:141-152.
- Lowe W. H., F. W. Allendorf. 2010. What can genetics tell us about population connectivity? *Mol. Ecol.* 19:3038–3051

Luikart G., P. R. England, D. Tallmon, S. Jordan, P. Taberlet. 2003. The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nat. Rev. Genet.* 4:981-994.

Lynn R. J., J. J. Simpson. 1987. The California current system: The seasonal variability of its physical characteristics. *J. Geophys. Res.* 92:12947–12966.

Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27:209-220.

McCay B. J., F. Micheli, G. Ponce-Díaz, G. Murray, G. Shester, S. Ramirez-Sanchez, W. Weisman. 2014. Cooperatives, concessions, and co-management on the Pacific coast of Mexico. *Mar. Policy.* 44:49–59.

Medina-Romo Z., A. D. Re, F. Díaz, A. Mena. 2010. Physiological responses of pink abalone *Haliotis corrugata* (Gray, 1828) exposed to different combinations of temperature and salinity. *Aquac. Res.* 41:953-960.

Milano I., M. Babbucci, A. Cariani, M. Atanassova, D. Bekkevold, G. R. Carvalho, M. Espiñeira, F. Fiorentino, G. Garofalo, A. J. Geffen, J. H. Hansen, S. J. Helyar, E. E. Nielsen, R. Ogden, T. Patarnello, M. Stagioni, F. Consortium, F. Tinti, L. Bargelloni. 2014. Outlier SNP markers reveal fine-scale genetic structuring across European hake populations (*Merluccius merluccius*). *Mol. Ecol.* 23:118–135.

Miller A. D., A. Van Rooyen, G. Rasic, D. A. Ierodiaconou, H. K. Gorfine, R. Day, C. Wong, A. A. Hoffmann, A. R. Weeks. 2016. Contrasting patterns of population connectivity between regions in a commercially important mollusc *Haliotis rubra*: integrating population genetics, genomics and marine LiDAR data. *Mol. Ecol.* 1-20.

Miyake Y., S. Kimura, T. Kawamura, T. Kitagawa, M. Hara, H. Hoshikawa. 2010. Estimating larval supply of Ezo abalone *Haliotis discus nannai* in a small bay using a coupled particle-tracking and hydrodynamic model: Insights into the establishment of harvest refugia. *Fish. Sci.* 76:561–570.

Miyake Y., S. Kimura, T. Horii, T. Kawamura. 2017. Larval dispersal of abalone and its three modes: a Review. *J. Shellfish Res.* 36(1):157-167.

Monal M. L., P. C. Southgate, D. R. Jerry, K. R. Zenger. 2016. Fishing for divergence in a sea of connectivity: The utility of ddRADseq genotyping in a marine invertebrate, the black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Mar. Genom.* 25:57–68.

Morales-Bojórquez E., M. O. Muciño-Díaz, J. A. Vélez-Barajas. 2008. Analysis of the Decline of the Abalone Fishery (*Haliotis fulgens* and *H. corrugata*) along the

Westcentral Coast of the Baja California Peninsula, Mexico J. Shellfish Res. 27(4):865-870.

Morin P. A., G. Luikart, R. K. Wayne. 2004. SNPs in Ecology, Evolution and Conservation. Trends Ecol. Evol. 19:208-216.

Mullins R. B., N. J. McKeown, W. H. H. Sauer, P. W. Shaw. 2018. Genomic analysis reveals multiple mismatches between biological and management units in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). J. Mar. Sci. 1-8.

Munguía-Vega A., A. Sáenz-Arroyo, A. P. Greenley, J. A. Espinoza-Montes, S. R. Palumbi, M. Rossetto, F. Micheli. 2015. Marine reserves help preserve genetic diversity after impacts derived from climate variability: Lessons from the pink abalone in Baja California. Elsevier. Global Ecol. Conserv. 4:264–276.

Narum S. R., J. E. Hess. 2011. Comparison of FST outlier tests for SNP loci under selection. Mol. Ecol. Resour. 11:184–194.

Nei M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, NY, USA.

Nielsen E. E., J. Hemmer-hansen, P. F. Larsen, D. Bekkevold. 2009. Population genomics of marine fishes: identifying adaptive variation in space and time. Mol. Ecol. 18:3128–3150.

Ortíz-Quintanilla M., G. León-Carballo, M. A. Reinecke-Reyes, A. Lelevier-Grijalva, J. R. Turrubiates-Morales, J. G. González-Aviles. 1990. Proceso reproductivo en especies de abulón (*Haliotis* spp.) y su relación con los mecanismos regulatorios pesqueros en la costa occidental e islas de la península de Baja California, México. Res. VIII Simp. Internal. Biol. Mar. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada. 156–163.

Palumbi S. R. 2003. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. Ecol. Appl. 13(1):S146–S158.

Paris J. R., J. R. Stevens, J. M. Catchen. 2017. Lost in parameter space: a road map for STACKS. Methods Ecol. Evol. 8:1360–1373.

Park C. J., M. Hara, J. H. Lee, J. K. Noh, H. C. Kim, J. W. Park, S. Y. Kim. 2012. Genetic population structure of the wild pacific abalone (*Haliotis discus*) in Korea and Japan based on microsatellite DNA markers. Biochem. Sys. Ecol. 44:86–95.

Paterno M., M. Schiavina, G. Aglieri, J. B. Souissi, E. Boscari, R. Casagrandi, A. Chassanite, M. Chiantore, L. Congiu, G. Guarnieri, C. Kruschel, V. Macic, I. A. M. Marino, C. Papetti, T. Patarnello, L. Zane, P. Melià. 2017. Population genomics

meet Lagrangian simulations: Oceanographic patterns and long larval duration ensure connectivity among *Paracentrotus lividus* populations in the Adriatic and Ionian seas. *Ecol. Evol.* 7:2463–2479.

Pazmiño D. A., G. E. Maes, C. A. Simpfendorfer, P. Salinas de Leon, L. van Herwerden. 2017. Genome-wide SNPs reveal low effective population size within confined management units of the highly vagile Galapagos shark (*Carcharhinus galapagensis*). *Conserv. Genet.* 18:1151–1163.

Peng R., W. Peng, W. You, Z. Huang, Q. Guo, N. Chen, P. He, J. Ke, J. C. Gwo, C. Ke. 2016. Genetic mapping and quantitative trait loci analysis of growth-related traits in the small abalone *Haliotis diversicolor* using restriction-site-associated DNA sequencing. *Aquaculture.* 454:163–170.

Peterson B. K., J. N. Weber, E. H. Kay, H. S. Fisher, H. E. Hoekstra. 2012. Double Digest RADseq: An Inexpensive Method for De Novo SNP Discovery and Genotyping in Model and Non-Model Species. *Plos One.* 7(5):1-11.

Ponce-Díaz G., A. Vega-Velázquez, M. Ramade-Villanueva, G. León-Carballo, R. Franco-Santiago. 1998. Socioeconomic characteristics of the abalone fishery along the West Coast of the Baja California peninsula, México. *J. Shellfish Res.* 17:853–857.

Prince J. D., S. A. Guzmán del Prío. 1993. A stock reduction analysis of the Mexican abalone (*Haliotis*) fishery. *Fish. Res.* 16:25–49.

Pritchard J. K., M. Stephens, P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155(2):945-959.

Puritz J. B., C. M. Hollenbeck, J. R. Gold. 2014. dDocent: a RADseq, variant-calling pipeline designed for population genomics of non-model organisms. *PeerJ.* 2:e431.

R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Ramade-Villanueva M., D. B. Lluch-Cota, S. E. Lluch-Cota, S. Hernández-Vázquez, A. Espinoza-Montes, A. Vega-Velázquez. 1998. An evaluation of the annual quota mechanism as a management tool in the Mexican abalone fishery. *J. Shellfish Res.* 17:847–851.

Riginos C., E. D. Crandall, L. Liggins, P. Bongaerts, E. A. Treml. 2016. Navigating the currents of seascape genomics: how spatial analyses can augment population genomic studies. *Curr. Zool.* 1–21.

Rochette N. C., J. M. Catchen. 2017. Deriving genotypes from RAD-seq short-read data using Stacks. *Nat. Protoc.* 12(12):2,640-2,659.

Rodríguez-Ezpeleta N., I. R. Bradbury, N. Mendibil, P. Álvarez, U. Cotano, X. Irigoien. 2016. Population structure of Atlantic mackerel inferred from RAD-seq-derived SNP markers: effects of sequence clustering parameters and hierarchical SNP selection. *Mol. Ecol. Resour.* 16:991–1001.

Rodríguez-Valencia J. A., F. Caballero-Alegría, J. Castro-González. 2004. Tendencias temporales (1989–1999) en las poblaciones de *Haliotis fulgens* y *H. corrugata* (Gastropoda: Haliotidae) de Isla de Cedros, Baja California, México. *Cienc. Mar.* 30(3):489–501.

Saenz-Agudelo P., J. D. Dibattista, M. J. Piatek, M. R. Gaither, H. B. Harrison, G. B. Nanninga, M. L. Berumen. 2015. Seascape genetics along environmental gradients in the Arabian Peninsula: insights from ddRAD sequencing of anemonefishes. *Mol. Ecol.* 24:6241–6255.

Sandoval-Castillo J., N. A. Robinson, A. M. Hart, L. W. S. Strain, L. B. Beheregaray. 2018. Seascape genomics reveals adaptive divergence in a connected and commercially important mollusc, the greenlip abalone (*Haliotis laevigata*), along a longitudinal environmental gradient. *Mol. Ecol.* 1–18.

Sanford E., M. W. Kelly. 2011. Local Adaptation in Marine Invertebrates. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 3:509–534.

Savolainen O., M. Lascoux, J. Merilä. 2013. Ecological genomics of local adaptation. *Nat. Rev. Genet.* 14:807-820.

Schlötterer C. 2004. The evolution of molecular markers — just a matter of fashion? *Nature.* 63-69.

Seeb J. E., G. Carvalho, L. Hauser, K. Naish, S. Roberts, L. W. Seeb. 2011. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms. *Mol. Ecol. Resour.* 11:1–8.

Selkoe K. A., C. C. D'Aloia, E. D. Crandall, M. Lacchei, L. Liggins, J. B. Puritz, S. von der Heyden, R. J. Toonen. 2016. A decade of seascape genetics: contributions to basic and applied marine connectivity. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 554:1–19.

Selkoe K. A., J. R. Watson, C. White, T. B. Horin, M. Lacchei, S. Mitarai, D. A. Siegel, S. D. Gaines, R. J. Toonen. 2010. Taking the chaos out of genetic patchiness: seascape genetics reveals ecological and oceanographic drivers of genetic patterns in three temperate reef species. *Mol. Ecol.* 19:3708–3726.

Sexton J. P., S. B. Hangartner, A. A. Hoffmann. 2014. Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common? *Evolution*. 68(1):1–15.

Sierra-Rodríguez P., M. Muciño-Díaz, J. L. Gutiérrez-González, J. R. Turrubiates-Morales. 2006. La pesquería del abulón. En: Arreguín-Sánchez F., L. Belendez-Moreno, I. Mendez Gomez-Humaran, R. Solana-Sansores, C. Rangel-Dávalos (eds.). *Sustentabilidad y pesca responsable en México: Evaluación y Manejo*. Instituto Nacional de la Pesca. La Paz, Baja California Sur, México. pp 1-33.

Siqueiros-Beltrones D. A., E. Serviere-Zaragoza, U. Argumedo-Hernández. 2002. Epiphytic diatoms of *Macrocystis pyrifera* (L.) C. AG. from the Baja California Peninsula, México. *Oceánides*. 17(1):31-39.

Siqueiros-Beltrones D., S. Guzmán del Prío, E. Serviere-Zaragoza. 2005. Main diatom taxa in the natural diet of juvenile *Haliotis fulgens* and *H. corrugata* (Mollusca: Gastropoda) in Bahía Tortugas and Bahía Asunción, B. C. S., México. *Pac. Sci.* 59(4):581-592.

Slatkin M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. *Evolution*. 47(1):264–279.

Sovic M. G., A. C. Fries, H. L. Gibbs. 2015. AftrRAD: a pipeline for accurate and efficient *de novo* assembly of RADseq data. *Mol. Ecol. Resour.* 15:1163–1171.

Stapley J., J. Reger, P. G. D. Feulner, C. Smadja, J. Galindo, R. Ekblom, C. Bennison, A. D. Ball, A. P. Beckerman, J. Slate. 2010. Adaptation genomics: the next generation. *Trends Ecol. Evol.* 25:705-712.

Stinchcombe J. R., H. E. Hoekstra. 2008. Combining population genomics and quantitative genetics: finding the genes underlying ecologically important traits. *Nature. Heredity*. 100:158-170.

Tariel J., G. C. Longo, G. Bernardi. 2016. Tempo and mode of speciation in *Holacanthus* angelfishes based on RADseq markers. *Mol. Phylogenet. Evol.* 98:84–88.

Therkildsen N. O., J. Hemmer-Hansen, R. B. Hedeholm, M. S. Wisz, C. Pampoulie, D. Meldrup, S. Bonanomi, A. Retzel, S. M. Olsen, E. E. Nielsen. 2013. Spatiotemporal SNP analysis reveals pronounced biocomplexity at the northern range margin of Atlantic cod *Gadus morhua*. *Evol. Appl.* 6:690–705.

Tigano A., V. L. Friesen. 2016. Genomics of local adaptation with gene flow. *Mol. Ecol.* 25:2144-2164.

Tutschulte T., J. H. Connell. 1981. Reproductive biology of three species of abalone (*Haliotis*) in southern California. *Veliger*. 23:195-206.

Valenzuela-Muñoz V., J. M. Araya-Garay, C. Gallardo-Escárte. 2013. SNP discovery and High Resolution Melting Analysis from massive transcriptome sequencing in the California red abalone *Haliotis rufescens*. *Mar. Genom.* 10:11–16.

Vega-García P. D., A. Piñón-Gimate, N. Vélez-Arellano, S. E. LLuch-Cota. 2015. Differences in diet of green (*Haliotis fulgens*) and pink (*H. corrugata*) wild abalone along the Pacific coast of the Baja California peninsula, using stable isotope analyses. *J. Shellfish Res.* 34(3):879-884.

Vignal A., D. Milan, M. Sancristobal, A. Eggen. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* 34:275-305.

Wang I. J., G. S. Bradburd. 2014. Isolation by environment. *Mol. Ecol.* 23:5649–5662.

Waples R. S., O. Gaggiotti. 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Mol. Ecol.* 15:1419–1439.

Weir B. S., C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 38:1,358.

Wyngaarden M. V., P. V. R. Snelgrove, C. DiBacco, L. C. Hamilton, N. Rodríguez-Ezpeleta, N. W. Jeffery, R. R. E. Stanley, I. R. Bradbury. 2017. Identifying patterns of dispersal, connectivity and selection in the sea scallop, *Placopecten magellanicus*, using RADseq-derived SNPs. *Evol. Appl.* 10:102–117.

Xu S., N. Song, L. Zhao, S. Cai, Z. Han, T. Gao. 2017. Genomic evidence for local adaptation in the ovoviparous marine fish *Sebastiscus marmoratus* with a background of population homogeneity. *Sci. Rep-UK*. 1-12.

Ying Y. P., Y. Chen, L. S. Lin, T. X. Gao. 2011. Risks of ignoring fish population spatial structure in fisheries management. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 68:2101–2120.

Young E. F., N. Tysklind, M. P. Meredith, M. de Bruyn, M. Belchier, E. J. Murphy, G. R. Carvalho. 2018. Stepping stones to isolation: Impacts of a changing climate on the connectivity of fragmented fish populations. *Evol. Appl.* 1–17.

Zaytsev O., R. Cervantes-Duarte, O. Montante, A. Gallegos-Garcia. 2003. Coastal Upwelling Activity on the Pacific Shelf of the Baja California Peninsula. *J. Oceanogr.* 59:489-502.

Zhao Y., W. Peng, H. Guo, B. Chen, Z. Zhou, J. Xu, D. Zhang, P. Xu. 2018. Population Genomics Reveals Genetic Divergence and Adaptive Differentiation of Chinese Sea Bass (*Lateolabrax maculatus*). *Mar. Biotechnol.* 20:45–59.

## 11. ANEXOS

**Anexo A.** Secuencias de Adaptadores tipo *Index* (Peterson *et al.*, 2012), en negritas se muestran los utilizados en el presente estudio.

Nombre Identificador	Secuencia
PCR1	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC-TCTTTCCCTACACGACG
<b>PCR2_idx_1_ATCAG</b>	<b>CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATCGTGA-TGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGC</b>
<b>PCR2_idx_2_CGATGT</b>	<b>CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATACATC-GGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGC</b>
PCR2_idx_3_TTAGGC	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATGCCTAA-GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGC
PCR2_idx_4_TGACCA	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATTGGTCA-GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGC
PCR2_idx_5_ACAGTG	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATCACTGTG-TGACTGGAGTTCAGACGTGTGC
<b>PCR2_idx_6_GCCAAT</b>	<b>CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATATTGGCG-TGACTGGAGTTCAGACGTGTGC</b>
PCR2_idx_7_CAGATC	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATGATCTGGT-GACTGGAGTTCAGACGTGTGC
PCR2_idx_8_ACTTGA	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATTCAAGTGT-GACTGGAGTTCAGACGTGTGC
<b>PCR2_idx_9_GATCAG</b>	<b>CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATCTGATCGT-GACTGGAGTTCAGACGTGTGC</b>
PCR2_idx_10_TAGCTT	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATAAGCTAGT-GACTGGAGTTCAGACGTGTGC
PCR2_idx_11_GGCTAC	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATGTAGCCGT-GACTGGAGTTCAGACGTGTGC
PCR2_idx_12_CTTGTA	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATTACAAGGTG-ACTGGAGTTCAGACGTGTGC

**Anexo B.** Recopilación y comparativo bibliográficos de parámetros utilizados en ensamblaje *de novo* en Ustacks.

<b>Antecedentes</b>	<b>Software</b>	<b>M</b>	<b>m</b>	<b>n</b>	<b>Sujeto de Estudio</b>
Attard <i>et al.</i> , 2017	Stacks	2	2	4	<i>Macquaria ambigua</i>
Benestan <i>et al.</i> , 2015	Stacks	2	3		<i>Homarus americanus</i>
Blanco-Bercial y Bucklin, 2016	Stacks	2	3	3	<i>Centropages typicus</i>
Carreras <i>et al.</i> , 2017	TASSEL	1	5		<i>Symphodus tinca</i>
Catchen <i>et al.</i> , 2011	Stacks	2	3	2	-
Combosch y Vollmer, 2015	Stacks	2	5	3	<i>Pocillopora sp.</i>
Díaz-Arce <i>et al.</i> , 2016	Stacks	2	5	4	<i>Thunnus sp</i>
Dibattista <i>et al.</i> , 2017	Stacks	3	4	2	<i>Chaetodon austriacus</i>
Drinan <i>et al.</i> , 2018	Stacks	2	3	3	<i>Gadus macrocephalus</i>
Flanagan <i>et al.</i> , 2016	Stacks	2	2	4	<i>Syngnathus scovelli</i>
Guo <i>et al.</i> , 2015	BWA	2		2	<i>Gasterosteus aculeatus</i>
Hale <i>et al.</i> , 2013	Novocraft		5		<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Kess <i>et al.</i> , 2016	Velvet		15		<i>Littorina saxatilis</i>
Kobayashi <i>et al.</i> , 2018	Stacks	2	3	1	<i>Sargassum thunbergii</i>
Miller <i>et al.</i> , 2016	Stacks	3/7	3	0/3	<i>Haliotis rubra</i>
Monal <i>et al.</i> , 2016	Stacks	2	2	4	<i>Pinctada margaritifera</i>
Paterno <i>et al.</i> , 2017	Stacks	4	15	4	<i>Paracentrotus lividus</i>
Peng Ren <i>et al.</i> , 2016	Stacks	2	10	2	<i>Haliotis diversicolor</i>
Pfeiffer <i>et al.</i> , 2017	pyRAD	2	10	4	<i>Macquaria ambigua</i>
Rodríguez-Ezpeleta <i>et al.</i> , 2016	Stacks	2/4	5	3/6	<i>Scomber scombrus</i>
Sáenz-Agudelo <i>et al.</i> , 2015	Stacks	2	3	2	<i>Amphiprion omanensis</i>
Sandoval-Castillo <i>et al.</i> , 2018	Stacks	8	5		<i>Haliotis laevigata</i>
Tariel <i>et al.</i> , 2016	Stacks	3	3	7	<i>Holacanthus sp</i>
Valenzuela-Muñoz <i>et al.</i> , 2013	G.Workbench	2	8		<i>Haliotis rufescens</i>
Wyngaarden <i>et al.</i> , 2017	Stacks	4	5		<i>Placopecten magellanicus</i>
Zhao <i>et al.</i> , 2018	Stacks	2	3	3	<i>Lateolabrax maculatus</i>