



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

" ESTRUCTURA GENÓMICA POBLACIONAL DEL
CAMARÓN AZUL (*Litopenaeus stylirostris*) EN LA
COSTA NOROESTE DE MÉXICO "

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos
Naturales

(Orientación Biología Marina)

P r e s e n t a

Juan Paulo Mora Martínez

La Paz, Baja California Sur, Febrero de 2020

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 15 horas del día 17 del Mes de febrero del 2020, 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:

" ESTRUCTURA GENÓMICA POBLACIONAL DEL CAMARÓN AZUL (Litopenaeus stylirostris) EN LA COSTA NOROESTE DE MÉXICO "

Presentada por el alumno:

Juan Paulo Mora Martinez

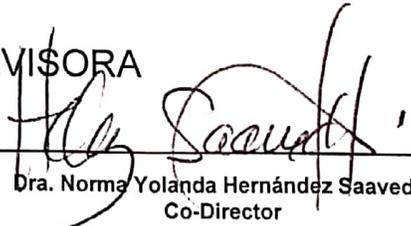
Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Biología Marina**

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.

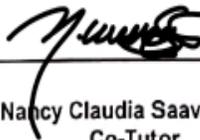


Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Co-Director de Tesis

LA COMISIÓN REVISORA



Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra
Co-Director



Dra. Nancy Claudia Saavedra Sotelo
Co-Tutor



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
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

Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Directora de tesis

Dra. Nancy Claudia Saavedra Sotelo
Universidad Autónoma de Sinaloa
Co-Tutora de tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra
Dra. Nancy Claudia Saavedra Sotelo

Jurado de Examen

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra
Dra. Nancy Claudia Saavedra Sotelo

Suplentes

Dr. Juan Antonio de Anda Montañez

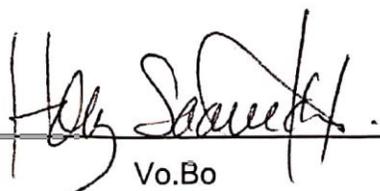
Resumen

El adecuado manejo pesquero depende, en gran medida, de la correcta identificación de los stocks pesqueros. La delimitación de estos grupos nos permite evaluar sus dinámicas particulares con diferentes respuestas a la presión pesquera y/o ambiental; por lo que su delimitación espacial debe ser primordial en la gestión de los recursos pesqueros. La genómica poblacional permite definir stocks poblacionales con mayor precisión debido al elevado número de *loci* analizados. El camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*) es el recurso pesquero que representa la mayor fuente de ingresos económicos de la pesquería artesanal de los estados de Baja California Sur, Sonora y Sinaloa, reportando un estatus de aprovechamiento al máximo sostenible. Sin embargo, aún no se cuenta con un plan de manejo debido a la falta de delimitación espacial de potenciales stocks en la región. El objetivo de este trabajo fue identificar los stocks poblacionales de *L. stylirostris* en la costa noroeste de México. Para ello, se colectaron 330 individuos adultos de la pesca artesanal de 10 localidades del Golfo de California y una localidad del océano Pacífico. Se analizaron 755 *loci* polimorfismos de una sola base (SNPs, por sus siglas en inglés) mediante la técnica de secuenciación del ADN asociado a sitios de restricción de doble digestión (ddRAD-seq, por sus siglas en inglés). Del total de SNPs, 691 fueron identificados como *loci* neutrales y 6 como *loci outliers*. Los resultados de estructura poblacional mostraron para ambos grupos de *loci*, dos grupos poblacionales: uno integrado por la localidad de Bahía San Jorge (localidad del Alto Golfo de California) y el segundo integrado por el resto de las localidades desde Bahía de Kino (Sonora) hasta Altata (Sinaloa) por la parte continental y Puerto San Carlos (B.C.S.), lo cual difiere de las zonas administrativas actuales del recurso. Aunado al patrón de estructura, se observó un patrón de aislamiento por distancia significativo en marcadores neutrales. Estos patrones de estructura y flujo genético podría estar asociados a las corrientes oceanográficas, las cuales actúan como barreras geográficas y/o dispersión larvaria. Finalmente, no se encontró una asociación-genoma ambiente ni homología asociada a funciones biológicas para los 6 *loci outliers*.

Palabras clave: SNPs, genómica poblacional, ddRAD-seq, stocks poblacionales, *Litopenaeus stylirostris*.



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



Vo.Bo
Dra. Norma Yolanda
Hernández Saavedra
Co-Directora de Tesis

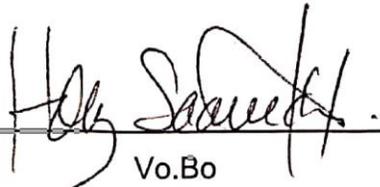
Summary

The suitable fisheries management depends on the correct identification of fisheries stocks. Delimitation of these groups enable to assess the particular population dynamics of each group, which presents different responses to fishery and/or environmental conditions. Therefore, the correct spatial delimitation should be essential in the management of fishery resources. Population genomics allows the accurate definition of population structure (stocks) using a high number of polymorphic loci. The blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) fishery represents the largest source of income of the artisanal fishery in Baja California Sur, Sonora and Sinaloa, reporting a status of maximum sustainable yield. However, the fishery has not a management plan and lacks of knowledge about stocks composition in the region. The goal was identify the population stocks of *L. stylirostris* on the northwest coast of Mexico. A total of 330 adult individuals were collected from artisanal fishery, from 10 locations in the Gulf of California and a Pacific Ocean location. A total of 755 single nucleotide polymorphisms (SNPs) loci were obtained by DNA sequencing technique of double digest restriction-site associated DNA (ddRAD-seq). 691 SNPs were identified as neutral loci and 6 as outlier loci. Results of population structure showed two population groups using neutral and outlier loci: one located in San Jorge Bay (the Upper Gulf of California), and the second located from Bahia de Kino (Sonora) to Altata (Sinaloa), including Puerto San Carlos (BCS) in the mainland. These results differ from the current administrative areas of the blue shrimp. In addition, isolation by distance pattern was observed with neutral markers. The structure and gene flow patterns might be related with the oceanographic currents, which acting as geographical barriers and/or mechanisms of larval dispersion. Finally, no genome-environment association or homology associated with biological functions were found with the 6 outlier loci.

keywords: SNPs, population genomics, ddRAD-seq, population stocks, *Litopenaeus stylirostris*.



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



Vo.Bo
Dra. Norma Yolanda
Hernández Saavedra
Co-Directora de Tesis

Dedicatoria

A mi prometida e hijo que son mi motor día a día, los amo.

A mis por siempre creer en mí.

A mis hermanos que siempre me impulsan a ser mejor.

Agradecimientos

Al CONACyT por la beca otorgada No. 490031.

Al Proyecto SEP-CONACYT de Ciencia Básica 257524: Paisaje genómico en el medio marino: patrones de diversidad adaptativa.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste por recibirme en sus instalaciones, por todo el apoyo brindado durante este proyecto.

A mi comité tutorial Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez, Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra y Dra. Nancy Claudia Saavedra Sotelo por su apoyo, dedicación y paciencia en el desarrollo de este proyecto.

Al personal administrativo Lic. Osvelia Morales, Lic. Leticia Rubio, Tania Nuñez y al Lic. Horacio Sandoval del posgrado por sus atenciones y consejos durante mi estadía en la maestría.

A la Dra. Crisalejandra Rivera y M.C. Delia Rojas por su enorme apoyo durante la estancia en el laboratorio de Genética Molecular.

A mis amigos y RADsequers Paulina, Jorge, Cami, Karina, Victor, Cecy y Ale, por el gran equipo que dedico tantas horas a esto.

A Paulina Mejía Ruiz mil gracias por tu apoyo en todo momento y horas brindadas que pusiste para que pudiera realizar este trabajo, así como tu amor y apoyo moral incondicionalmente.

A mis padres Paulo Cesar y Sanjuana, por todo su cariño y apoyo, porque sin ustedes no hubiera podido realizar nada de esto. Y en especial a ti madre ya que este logro, como otros que he conseguido se debe a ti y tu enorme esfuerzo por siempre ser la mejor madre. Te Amo.

A mis hermanos Alejandro Martinez y su esposa Veronica, Emilio Mora, Anna Martinez y en especial a Fernando Mora porque ustedes siempre me han impulsado a ser mejor y a pensar en grande, por todos los momentos que pasamos juntos y porque a pesar de estar lejos siempre contaba con ustedes. muchas gracias los quiero demasiado.

A mi mama chiquita María Asunción, y a todas mis tías(os) Carmelita, Jesús, Magali, Adriana, Joaquín y mi tía Rosa por sus atenciones y cariño porque, aunque estuviera lejos siempre estuvieron al pendiente de mí. Los quiero mucho.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	
Lista de figuras	vii
Lista de tablas	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Genómica poblacional.....	3
2.1.1 Polimorfismos de una sola base (SNPs) y técnica de Secuenciación Asociada a Sitios de Restricción con Doble Digestión (dd-RADseq).....	4
2.1.2 Genómica poblacional en recursos pesqueros.....	5
2.2 Sujeto de estudio (<i>Litopenaues stylirostris</i>).....	8
2.2.1 Biología.....	8
2.2.2 Importancia comercial.....	10
2.2.3 Regulación.....	10
2.3 Características del Golfo de California (GC).....	11
2.4 Patrones genético-poblacionales en el GC.....	13
2.4.1 Estudios de genética poblacional en peneidos del GC.....	15
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. HIPÓTESIS	18
5. OBJETIVOS	19
5.1 Objetivo general.....	19
5.2 Objetivos particulares.....	19
6. MATERIAL Y MÉTODOS	20
6.1 Área de estudio.....	20
6.2 Trabajo de laboratorio.....	21
6.2.1 Extracción de ADN.....	21
6.2.2 Elaboración de librerías genómicas ddRAD.....	21
6.3 Análisis bioinformático.....	23

6.3.1 Limpieza, filtrado e identificación de SNPs.....	23
6.3.2 Detección de <i>SNPs outliers</i>	25
6.3.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	25
6.4 Análisis de estructura genómico poblacional.....	26
6.4.1 Diferenciación genética poblacional (F_{ST}).....	26
6.4.2 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP).....	27
6.4.3 Análisis de clúster.....	27
6.4.4 Análisis de varianza molecular (AMOVA).....	28
6.5 Aislamiento por distancia.....	28
6.6 Relación genoma ambiente.....	29
7. RESULTADOS	30
7.1 Trabajo de laboratorio.....	30
7.2 Análisis bioinformático.....	32
7.2.1 Limpieza, filtrado e identificación de SNPs.....	32
7.2.2 Detección de <i>SNPs outliers</i>	34
7.2.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	36
7.3 Análisis de estructura genómico poblacional (<i>SNPs</i> neutrales).....	36
7.3.1 Diferenciación genética poblacional (F_{ST}).....	36
7.3.2 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP).....	37
7.3.3 Análisis de clúster.....	38
7.3.4 Análisis de varianza molecular (AMOVA).....	40
7.4 Análisis de estructura genómico poblacional (loci outliers).....	40
7.4.1 Diferenciación genética poblacional (F_{ST}).....	41
7.4.2 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP).....	41
7.4.3 Análisis de clúster.....	42
7.4.4 Análisis de varianza molecular (AMOVA).....	43
7.5 Aislamiento por Distancia.....	44
7.6 Relación genoma ambiente.....	45
8. DISCUSIÓN	49
9. CONCLUSIONES	59
10. LITERATURA CITADA	60
11. ANEXO	73

Lista de figuras

Figura 1. Ciclo de vida de camarón azul (<i>L. stylirostris</i>) (Tomado de López-Martínez, 2008).....	9
Figura 2. Sistema general de corrientes y vientos (flechas) para el Golfo de California tanto giros anticiclónicos en invierno (izquierda) como giros ciclónicos en verano (derecha) (Tomado de Lluch-Cota <i>et al.</i> , 1999).	13
Figura 3. Sitios de muestreo de camarón azul (<i>L. stylirostris</i>), en las diferentes localidades del noroeste de México: 1. Altata (ALT), 2. Cerro Cabezón (CC-NAV), 3. Topolobampo (TPO), 4. Agiabampo (AGI), 5. Yavaros (YAV), 6. Paredón Colorado (PC), 7. Bahía de Lobos (BL), 8. Guaymas (GYM), 9. Bahía de Kino (BK), 10. Bahía San Jorge (BSJ) y 11. Puerto San Carlos (PSC).....	20
Figura 4. Patrón electroforético de ADN total de camarón azul, extraído mediante el método de cloroformo-alcohol isoamílico, utilizado para la elaboración de librerías genómicas. Carriles: LS001 a LS012, 250 ng de ADN (diferentes individuos); carril derecho, escalera de 1 kb (Thermo Fisher®). Gel de agarosa-Synergel™ 1 % en TE, utilizando SYBR™ Gold (Thermo Fisher Scientific) como intercalante.....	30
Figura 5. Perfil electroforético de productos de ligación después de realizar el primer PCR (PCR1). Al centro, escalera 1kb Plus (Thermo Fisher®), el recuadro es un ejemplo de las muestras eliminadas del análisis. Gel de agarosa-Synergel™ 1 % en TE, utilizando SYBR™ Gold (Thermo Fisher Scientific) como intercalante.	31
Figura 6. Perfil electroforético de producto del PCR 2, que corresponde al pool final de ADN utilizado para la construcción de las librerías. A la izquierda se muestra la escalera 1kb Plus, en el centro se muestra la librería genómica terminada con peso molecular por debajo de los 500 pb. Gel de agarosa-Synergel™ 1 % en TE, utilizando SYBR™ Gold (Thermo Fisher Scientific) como intercalante.....	32
Figura 7. Detección de <i>SNPs</i> outliers. (a) Los <i>loci</i> bajo supuesta selección detectados por Bayescan se muestran a la derecha de la marca log(PO) (probabilidad posterior); (b) marcadores en rojo se encuentran bajo selección divergente, en color azul bajo selección balanceadora por Arlequin.....	35
Figura 8. Análisis discriminante de componentes principales para el camarón azul (<i>L. stylirostris</i>) con el set de 691 <i>loci</i> neutrales, reteniendo 10 componentes y dos eigenvalues, con una probabilidad de asignación del 88% para los grupos.	38
Figura 9. Análisis de cluster del camarón azul (<i>L. stylirostris</i>) para el set de marcadores neutrales de 691 <i>loci</i> . a) Número más probable de K utilizando el	

método de Evanno *et al.* (2005) usando el valor de Delta K; b) Numero más probable de K utilizando el método de Evanno *et al.* (2005) usando el valor de Logaritmo de K (LK); c) grafico de cluster para $K = 2$ y d) para $K = 3$, donde cada barra pertenece a un individuo y el color representa la probabilidad de pertenecer a uno u otro grupo, las líneas negras representan la separación entre las localidades. 39

Figura 10. Análisis discriminante de componentes principales para el camarón azul (*L. stylirostris*) con el set de 6 *loci outliers*, reteniendo 5 componentes y dos eigenvalues, con una probabilidad de asignación del 44% para los grupos. 42

Figura 11. Análisis de cluster del camarón azul (*L. stylirostris*) para el set de marcadores *outliers* de 6 *loci*. a) Numero más probable de Logaritmo de K (LK) b) Numero más probable de K utilizando el método de Evanno *et al.* (2005) usando el valor de Delta K, b) grafico de cluster para $K = 2$ y c) para $K = 3$, donde cada barra pertenece a un individuo y el color la proporción de pertenecer a uno u otro grupo, las líneas negras representan la separación entre las localidades. 43

Figura 12. Prueba de Mantel de aislamiento por distancia para el camarón azul (*L. stylirostris*). En el eje Y se muestran los valores de F_{ST} y en el eje X los valores de distancia geográfica en kilómetros. 45

Figura 13. Análisis de variables climatológicas a partir de imágenes del satélite Aqua MODIS. A) Temperatura Superficial del Mar (SST), b) Clorofila-a (Chla). En el eje Y se muestran las localidades y en el eje X se muestran los meses de enero (1) a diciembre (12). 46

Figura 14. Grafica triplot del Análisis de Redundancia para el camarón azul (*L. stylirostris*), usando las frecuencias de los seis *loci outliers* (puntos negros), los predictores se muestran en azul (flecha es magnitud y sentido) así como las localidades de las muestras en colores. 48

Lista de tablas

Tabla I. Tamaños de muestras por localidad (ID: abreviación de localidad; n: tamaño de muestra).....	31
Tabla II. Estadísticas del proceso de filtrado de lecturas para control de calidad.	33
Tabla III. Resumen por localidad de muestras eliminadas por datos faltantes.	34
Tabla IV. Análisis pareado de F_{ST} para el set de 691 <i>loci</i> neutrales de camarón azul (<i>L. stylirostris</i>). Por debajo de la diagonal se muestran los valores de F_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p después de la corrección secuencial de Bonferroni.....	37
Tabla V. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el set de 691 <i>loci</i> neutrales para probar 2 escenarios de estructuración, E1 tres poblaciones en base a la estructura observada (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, PC_YAV, GYM, BK, 3 BSJ) y E2 cuatro poblaciones en base a las unidades de manejo (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, 3 PC_YAV, GYM, BK, 4 BSJ).....	40
Tabla VI. Análisis pareado de F_{ST} para el set de 6 <i>loci outliers</i> de camarón azul (<i>L. stylirostris</i>), por debajo de la diagonal se muestran los valores de F_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p después de la corrección secuencial de Bonferroni ($p \leq 0.001$).....	41
Tabla VII. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el set de 6 <i>loci outliers</i> para dos escenarios, E1 tres poblaciones en base a la estructura observada (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, PC_YAV, GYM, BK, 3 BSJ) y E2 cuatro poblaciones en base a las unidades de manejo (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, 3 PC_YAV, GYM, BK, 4 BSJ).	44
Tabla VIII. Resumen de variables climatológicas para Análisis de Redundancia de camarón azul (<i>L. stylirostris</i>) para las 9 localidades.....	47

1. INTRODUCCIÓN

La pesca es una actividad económica que genera altos ingresos en muchos países, generando millones de empleos, además, sus productos son fuente de alimento nutritiva en proteína para el ser humano (Hoare y Beaumont, 2003). Sin embargo, muchos de los productos son especies explotadas sin previo conocimiento de sus poblaciones, lo que es ideal para un manejo sustentable. Uno de los atributos poblacionales que permiten un mejor manejo pesquero es la delimitación de stocks pesqueros.

La genómica de poblaciones tiene como objetivo estudiar la diversidad genómica en un espacio y tiempo determinado mediante el uso de un elevado número de marcadores moleculares, permitiendo así distinguir aquellos efectos a nivel de amplitud del genoma (deriva genética) de aquellos que son *locus* específicos (selección natural) y, por lo tanto, poder realizar inferencias sobre procesos demográficos y posibles adaptaciones locales (Nielsen *et al.*, 2009). Recientemente, han incrementado los estudios genómicos a nivel mundial que incorporan la variación ambiental y *loci* candidatos a selección, permitiendo evaluar el efecto de la adaptación local en poblaciones con elevado flujo genético o inclusive en casos de panmixia (Benestan *et al.*, 2015; Bradbury *et al.*, 2013; do-Prado *et al.*, 2018; Mullins *et al.*, 2018; Sandoval-Castillo *et al.*, 2018; Wyngaarden *et al.*, 2016). A su vez estos estudios han permitido definir con mayor precisión los stocks poblacionales para la elaboración de planes de manejo adecuados en especies de importancia comercial.

El camarón es un recurso pesquero que involucra varias especies de diferentes familias de Penaeidos, las más importantes desde el punto de vista comercial son; el camarón café (*Farfantepenaeus californiensis*), camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), y camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*). Estas especies son el

recurso pesquero más explotado a nivel nacional, siendo la pesquería de mayor remuneración económica, generando así una importante fuente de empleos. El camarón se encuentra posicionado en el cuarto lugar de la producción pesquera en México (más de 70,000 toneladas anuales), es el primero en recaudación económica con aproximadamente \$7,541,403 (miles de pesos, M.N.) solo para el 2013 (CONAPESCA, 2014). El presente trabajo se enfocará en el camarón azul *L. stylirostris* (Stimpson, 1871) (Orden: Decápoda, Familia: Penaeidae).

El camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*) se distribuye desde Punta Abreojos, Baja California, México, hasta Tumbes, Perú, incluyendo el Golfo de California (Lluch-Belda *et al.*, 2000). En México, la mayor abundancia del camarón azul se encuentra en el Golfo de California (GC), el cual, es un mar que se conecta con el océano Pacífico por una desembocadura de alrededor de 300 km, rodeado por los estados de Sonora, Sinaloa y la península de Baja California. Esta especie es la segunda más importante en generar ingresos en la pesquería de altamar en los estados de Sonora y Sinaloa, y es la primera en la pesca artesanal caracterizada por llevarse a cabo en bahías (INAPESCA, 2012).

Los estudios de estructura genética poblacional en camarón azul silvestre, en el GC, son escasos y solo evalúan la estructura neutral con un número limitado de marcadores. Estos estudios han obtenido resultados discrepantes dependiendo del marcador utilizado, algunos apuntan a la presencia de más de un grupo genético (RAPDs, Aubert y Lightner, 2000; Aloenzimas, De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000) o incluso panmixia (ADNmt, Mora-Martínez, 2017). La finalidad del presente estudio es determinar las fronteras espaciales de los stocks poblacionales del camarón azul incorporando datos de marcadores neutrales, así como de variabilidad genética adaptativa, aportando mayor conocimiento que pueda servir de apoyo para planes de manejo y conservación de la especie.

2. ANTECEDENTES

2.1 Genómica poblacional

La genómica de poblaciones es un área de estudio relativamente nueva que ha traído consigo una nueva manera de estudiar la genética de poblaciones. Esta área de estudio incorpora técnicas de secuenciación masiva que permiten utilizar un número elevado de marcadores moleculares con la finalidad de profundizar en los patrones ecológico-evolutivos de las especies (Luikart *et al.*, 2003). Una de las grandes ventajas es que no se limita a organismos modelo, sino posibilita su aplicación en organismos no-modelo con escaso o nulo conocimiento de su genoma. Anteriormente, los estudios genético-poblacionales se limitaban a la investigación de procesos demográficos, es decir, aquellos efectos a nivel de amplitud del genoma (deriva genética y flujo génico). No obstante, el aumento en el número de *loci* permite la detección de efectos *locus* específicos (selección natural) y su relación a la respuesta a procesos ambientales, permitiendo realizar inferencias sobre posibles adaptaciones locales (Black *et al.*, 2001; Nielsen *et al.*, 2009; Primmer, 2009).

Al igual que en la genética de poblaciones, en genómica es posible detectar diferentes patrones de estructura genómica poblacional. Los patrones de estructura poblacional son moldeados por factores demográficos, geográficos o ambientales, dentro de estos patrones se puede encontrar panmixia que se refiere a homogeneidad genética (Selkoe *et al.*, 2016). Aislamiento por distancia (IBD por sus siglas en Inglés) (Wright, 1946) y aislamiento por ambiente (IBE por sus siglas en Inglés) son patrones que se refieren a la variación del flujo génico en función de la distancia geográfica y de la heterogeneidad ambiental respectivamente (Wang y Bradburd, 2014). El modelo de Metapoblación sugiere una estructura en forma de parches, los cuales están conectadas entre sí en diferente magnitud y sentido (Sale *et al.*, 2006). Por último, el patrón de parcheo genético caótico se utiliza

cuando no se encuentra un patrón coherente o ninguno de los tipos de estructura anterior (Selkoe *et al.*, 2010). El objetivo de la genómica poblacional es elucidar este tipo de patrones en la naturaleza y las posibles fuerzas que los moldean.

2.1.1 Polimorfismos de una sola base (SNPs) y técnica de Secuenciación Asociada a Sitios de Restricción con Doble Digestión (dd-RADseq)

El marcador molecular que utilizan las técnicas de secuenciación masiva es del tipo polimorfismos de una sola base o SNPs por sus siglas en Inglés (Single Nucleotide Polymorphism). Los SNPs son cambios puntuales de bases nucleotídicas en diferente *loci*, estos marcadores presentan ventajas al utilizarse para evaluar la estructura genética poblacional debido a que: 1) tienen mejor resolución que otros marcadores como microsatélites, 2) presentan una menor tasa de mutación, y 3) se pueden obtener miles y millones de ellos a lo largo de todo el genoma, tanto en regiones codificantes como no codificantes (De Wit y Palumbi, 2013).

Existen diversas metodologías que permiten la identificación de SNPs, una de ellas es el Secuenciado de ADN Asociado a Sitios de restricción o RAD-seq por sus siglas en Inglés (Restriction site Associated DNA sequencing), las cuales, han tomado gran importancia en los últimos años debido a la relación costo-beneficio y a que no se requiere un genoma de referencia (organismos no modelo) (Da Fonseca *et al.*, 2016). Una de las derivaciones de la técnica RAD-Seq es la Secuenciación del ADN de Doble Digestión Asociada a Sitio de Restricción o ddRAD por sus siglas en Inglés (double-digest Restriction site-Associated DNA sequencing), en la cual se utilizan dos enzimas de restricción, una de corte frecuente y una de corte menos frecuente para reducir la complejidad del genoma generando fragmentos de ADN al azar. Estos fragmentos son secuenciados en diversas plataformas de secuenciación masiva, para posteriormente realizar el descubrimiento y obtención de genotipos de miles o decenas de miles de SNPs en un gran número de individuos en un solo paso (Peterson *et al.*, 2012).

Esta versatilidad ha permitido el empleo de esta técnica en una gran diversidad de taxa incluyendo especies no modelo como peces (Attard *et al.*, 2018; Dibattista *et al.*, 2017; Hale *et al.*, 2013; Sáenz-Agudelo *et al.*, 2015), mamíferos (Adenyo *et al.*, 2016; Lah *et al.*, 2016); aves (DaCosta y Sorenson, 2015; Lavretsky *et al.*, 2016), reptiles (Leaché *et al.*, 2015), y plantas (Yang *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2018), además ha sido empleada para responder una amplia diversidad de preguntas evolutivas, como estructura poblacional (Lal *et al.*, 2016), filogenia (DaCosta y Sorenson, 2015; Leaché *et al.*, 2015), hibridación (Capblancq *et al.*, 2015; Saarman y Pogson, 2015), y mapeo genético (Kai *et al.*, 2014) solo por mencionar algunos.

2.1.2 Genómica poblacional en recursos pesqueros

La detección de los patrones de estructuración en organismos marinos es un reto debido a la falta de barreras al flujo genético (Palumbi, 1994), sin embargo, el uso de la genómica ha ayudado a detectar inclusive niveles sutiles de divergencia poblacional en poblaciones que previamente se creían panmícticas (Nielsen *et al.*, 2009). Lo anterior ha tenido gran impacto en el estudio y manejo de especies de importancia pesquera. Una de las principales aplicaciones es la delimitación de stocks, los cuales se definen como unidades biológicas fundamentales sobre la cual se realiza un manejo (Booke, 1981).

A nivel de administración de recursos pesqueros se ha detectado una falta de correspondencia espacial entre las unidades biológicas y las unidades administrativas de manejo (Reiss *et al.*, 2009); tal es el caso de la langosta americana (*Homarus americanus*, Benestan *et al.*, 2015), el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*, Mullins *et al.*, 2018), el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*, Bradbury *et al.*, 2010), Arenque (*Clupea harengus*, Guo *et al.*, 2016) ostra (*Pinctada margaritifera*, Lal *et al.*, 2016), bacalao del Pacífico (*Gadus*

macrocephalus, Drinan *et al.*, 2018) y la merluza (*Merluccius merluccius*, Milano *et al.*, 2014). Además, el empleo de marcadores *outliers* ha cobrado relevancia, ya que permiten la identificación de grupos con adaptaciones locales asociadas a la heterogeneidad ambiental. El entendimiento de la amalgama de poblaciones y grupos con adaptaciones locales (biocomplejidad) brinda la oportunidad de mantener la capacidad de resiliencia del sistema (Hilborn *et al.*, 2003). Por lo tanto, la gestión de las pesquerías debería incluir el conocimiento tanto de las unidades poblacionales como los grupos con adaptación local. Actualmente se está incorporando este enfoque en diversos recursos alrededor del mundo como es el caso de la langosta americana (*Homarus americanus*, Benestan *et al.*, 2016), en abulón verde (*Haliotis laevigata*, Sandoval-Castillo *et al.*, 2018), bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*, Bradbury *et al.*, 2013), Arenque (*C. harengus*, Limborg *et al.*, 2012), almeja (*Placopecten magellanicus*, Wyngaarden *et al.*, 2016), lubina (*Lateolabrax maculatus*, Zhao *et al.*, 2018) y la merluza (*Merluccius merluccius*, Milano *et al.*, 2014). El problema de explotar un recurso sin tener conocimiento real de la delimitación biológica de los stocks, así como no considerar toda la variación biológica que se tiene puede resultar en la pérdida de diversidad genética y potencial adaptativo, y en casos extremos puede producir efectos negativos en el potencial de reclutamiento y por lo tanto una disminución en la productividad del recurso (Hilborn *et al.*, 2003; Mullins *et al.*, 2018).

Por mencionar algunos ejemplos, en la langosta americana (*Homarus americanus*), un recurso de alto valor comercial, se encontró una discrepancia entre las áreas administrativas establecidas, con los patrones de estructura genética encontrados (diferencias entre la región el norte región fría y al sur en temperaturas cálidas) en su rango de distribución, en el Océano Atlántico, demostrando que el uso de un gran número de marcadores mejora la delimitación en la estructura poblacional a una menor escala aun cuando la especie presenta un alto flujo génico (Benestan *et al.*, 2015). De igual manera, en el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) de Sudáfrica mostró una discrepancia entre las

unidades biológicas y las unidades de manejo establecidas previamente. Los patrones de estructura genética mostraron dos grupos genéticos distintos, uno perteneciente al océano Atlántico y otro al océano Indico, los cuales no concuerdan con las unidades establecidas para su manejo, sugiriendo nuevas medidas de manejo (Mullins *et al.*, 2018).

Los estudios genómicos también coadyuvan a comprender como los factores ambientales promueven las adaptaciones locales en poblaciones naturales y ayuda a una mejor comprensión de los efectos futuros del cambio climático sobre recursos de importancia pesquera (Valenzuela-Quíñonez, 2016), por ejemplo, en el bacalao (*Gadus morhua*) mediante el uso de SNPs mostraron cambios temporales durante un periodo de estudio de 80 años, dicho cambios fueron de *loci* outliers asociados a la temperatura (Therkildsen *et al.*, 2013). En el abulón verde (*Haliotis laevigata*), en la costa suroeste de Australia, mostró 5 grupos de organismos genéticamente diferentes asociados a 5 regiones, con una variación adaptativa asociada a la concentración de oxígeno y la temperatura mínima superficial del mar (Sandoval-Castillo *et al.*, 2018). De igual manera, el rodaballo (*Scophthalmus maximus*) en muestras del Océano Atlántico y mar Mediterráneo mostró 4 grupos genéticamente distintos con una asociación a salinidad y temperatura superficial del mar que no estaba reportada anteriormente para la especie (do Prado *et al.*, 2018). Las evidencias indican que la diversidad adaptativa es moldeada por el ambiente no solamente a nivel individual sino que esta presión selectiva se puede observar en múltiples especies con patrones de coincidentes de divergencia adaptativa en regiones de transición ambiental donde la temperatura es el factor preponderante (Stanley *et al.*, 2018; Teske *et al.*, 2019). En este sentido, los estudios genómicos no solo aportan a identificar de manera precisa discrepancias entre unidades biológicas y de manejo, sino también a entender los factores que moldean los patrones de estructuración neutral y adaptativo en el medio marino.

Otro reto importante en la gestión pesquera es la pesca ilegal ya que contribuye a la sobreexplotación de los recursos, los métodos tradicionales para evaluar la variación genética como ADNmt o microsatélites han dado una resolución limitada en la identificación la región de origen de organismos capturados (Trazabilidad) en comparación al uso de la genómica que ha reportado un eficacia mayor al 90% en asignaciones de origen (ejemplos: *Scophthalmus maximus*, do Prado *et al.*, 2018; *Oncorhynchus mykiss*, Hale *et al.*, 2013; *Gadus morhua*, *Clupea harengus*, *Solea Solea*, *Merluccius merluccius*, Nielsen *et al.*, 2012) ya que aumenta el poder de asignación a una escala más fina (Valenzuela-Quiñonez, 2016). Por lo tanto, la incorporación de estos nuevos estudios brindara una herramienta para combatir la pesca ilegal y un correcto etiquetado de recursos pesqueros.

2.2 Sujeto de estudio (*Litopenaues stylirostris*)

2.2.1 Biología

El camarón azul se distribuye desde Punta Abreojos, B.C.S. México (abarcando todo el GC), hasta Tumbes, Perú, presentando una distribución discontinua a lo largo del litoral (Lluch-Belda *et al.*, 2000). Esta es la segunda especie de mayor abundancia en lagunas, estuarios y bahías del norte y centro del GC; presenta una disminución en su densidad desde el sur de Mazatlán hasta la frontera con Guatemala (Rodríguez de la Cruz, 1981). *L. stylirostris* se ha relacionado con el tipo de sustrato, ya que tiene afinidad por fondos blandos como fango-arenosos, su temperatura óptima de crecimiento es de 28 °C, pero tolera temperaturas de entre 23 °C – 30 °C, teniendo consecuencias letales por arriba de los 33 °C y debajo de los 5 °C. La salinidad no se considera como un factor limitante en su distribución ya que son organismos eurihalinos (Rodríguez de la Cruz, 1981).

El ciclo de vida de *L. stylirostris* abarca 2 años, se da en tres etapas y cada etapa tiene una distribución específica en el medio (oceánico y/o zonas estuarinas); (i) la etapa larvaria se desarrolla en la columna de agua y consta de las fases nauplio, protozoa, zoea y mysis; todas ellas ocurren en el medio oceánico con una duración aproximada de 21 días, (ii) en la etapa de postlarva los organismos se mueven hacia aguas estuarinas; esta etapa tiene una duración de 10 - 14 días y es cuando se completa la etapa juvenil y pre-adulto, (iii) los pre-adultos regresan mar adentro para completar su ciclo biológico como adultos (Fig. 1) (Calderon-Aguilera *et al.*, 2003). Durante su vida adulta y fase reproductiva las hembras presentan individualmente desoves parciales, pero sólo 1 ó 2 desoves masivos (regularmente de marzo a septiembre); el promedio de longitud de una hembra es de 175 mm, a este tamaño es capaz de reproducirse al menos una vez antes de ser capturadas.

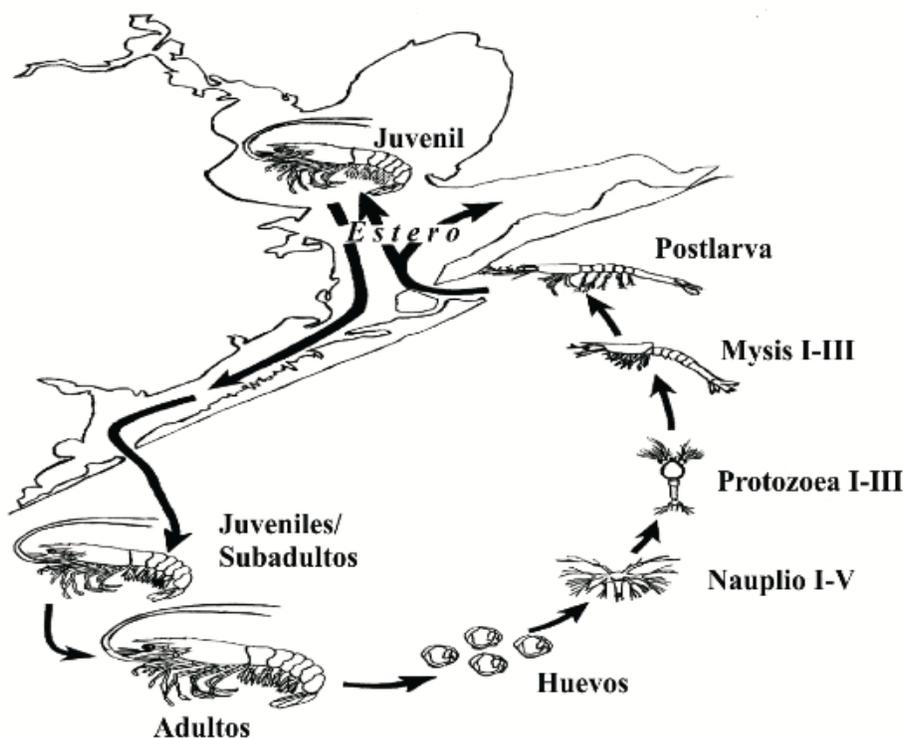


Figura 1. Ciclo de vida de camarón azul (*L. stylirostris*) (Tomado de López-Martínez, 2008).

2.2.2 Importancia comercial

La pesquería del camarón en el Pacífico mexicano incluyendo las costas del GC, tiene una gran importancia social, económica y cultural. El camarón es el segundo recurso pesquero más capturado en el total de las pesquerías de México, con más de 70,000 toneladas anuales, siendo superado por la sardina en primer lugar. En términos económicos, este recurso se encuentra en primer lugar debido a su valor de producción con aproximadamente \$17,707,310 (miles de pesos) solo para el 2017, siendo los estados de Sinaloa y Sonora los que sostienen principalmente la actividad con producciones del 43 % y 38 %, respectivamente. Estos porcentajes se deben principalmente a la captura del recurso en un gran número de lagunas costeras (estuarios) en estas costas. Representando el 26 % (2013-2015) del total de capturas en altamar y el 56 % de las capturas en lagunas y estuarios (Carta Nacional Pesquera, 2017).

2.2.3 Regulación

Las pesquerías deben ser reguladas con el fin de establecer y definir los principios para ordenar, fomentar y regular el manejo integral y el aprovechamiento sustentable de la pesca, considerando los aspectos sociales, tecnológicos, productivos, biológicos y ambientales (DOF, 2018). En este sentido las medidas regulatorias de embarcaciones son: (i) barco superior a 10 toneladas de registro bruto, equipado con dos redes de arrastre (luz de malla mínima de 44.45 mm), excluidores de tortugas y peces, con equipos modernos de navegación y exploración, operados por máximo 6 personas, (ii) embarcaciones menores a 8 m de eslora debe ser operada por tres pescadores, equipados con motor fuera de borda de potencia de 55-150 hp y un máximo de dos atarrayas lomerías (luz de malla mínima de 38.1 mm) (Carta Nacional Pesquera, 2017).

Las medidas normativas y regulatorias se realizaron con base en información biológica de las especies (López-Martínez *et al.*, 2008). También se tienen

establecidas vedas temporales (NOM-009-PESC-1993), que se refiere a periodos de tiempo de aproximadamente 4 meses (proteger los periodos de reproducción masiva y crecimiento) y vedas de distribuciones geográficas para proteger el reclutamiento (zonas de desarrollo juvenil). Dichas vedas temporales cambian anualmente conforme a los resultados de las evaluaciones basadas en muestreos biológicos por parte de INAPESCA, pero regularmente oscila entre los meses de marzo a septiembre. Por ejemplo, para el 2016 la SEMARNAT anunció el acuerdo de veda para todas las especies de camarón en las aguas marinas del océano Pacífico, incluyendo el GC, a partir del 7 de marzo del 2016 y levantándose dicha veda el 12 de septiembre del mismo año.

2.3 Características del Golfo de California (GC)

El GC es uno de los mares más ricos en diversidad y productivos económicamente hablando, este se conecta con el océano Pacífico por una desembocadura de alrededor de 300 km, tiene un largo aproximado de 1,200 km rodeado por los estados de Sonora, Sinaloa y la península de Baja California (Roden y Groves, 1959).

El GC se divide en 3 grandes biorregiones: 1) Alto Golfo de California (AGC), 2) el Centro del Golfo (CG), y 3) la Boca del Golfo (BG), las cuales se caracterizan por las condiciones de temperatura y productividad primaria. La región del AGC presenta una profundidad media de 100 m, altas salinidades superficiales y temperaturas que van de 10 °C en invierno a 32 °C en verano. Está delimitado al sur por las grandes islas (Ángel de la Guarda e Isla Tiburón), presenta un rango de marea de hasta 7 m lo cual genera una intensa mezcla con un incremento en la productividad primaria haciéndola la región más productiva. El CG presenta temperaturas que van de 16 °C en invierno a 31 °C en verano. Por último, la BG se caracteriza por ser la región que se comunica con el océano Pacífico, por lo que las condiciones de temperatura están influenciadas por dicho océano debido a la mezcla de las masas de agua (Lluch-Cota *et al.*, 2007).

El GC tiene una variación estacional marcada, presenta giros ciclónicos durante el periodo de verano con pequeñas corrientes residuales y pequeños remolinos para el AGC. En el CG se presenta un gran remolino, que en conjunto con una fuerte corriente costera continental que va hacia el noroeste desde la boca, transporta nutrientes y larvas hacia el norte. Adicionalmente, durante la época de invierno se en el golfo se presentan giros anticiclónicos predominantes en la zona centro y norte (Fig. 2) (Lluch-Cota *et al.*, 1999). La BG presenta la misma señal, sin embargo, las corrientes costeras del lado continental son más fuertes que las del lado peninsular (Marinone, 2012). Este conjunto de cambios provoca una retención larvaria en la zona el AGC y una gran dispersión larvaria en boca y centro, según los modelos tridimensionales de dispersión para la zona (Lavin y Marinone, 2003; Marinone, 2012).

Durante los meses de noviembre a mayo, vientos del noroeste incrementan las surgencias y con ello aumento en la producción primaria mientras que el resto del año vientos húmedos del sureste crean un ambiente tropical que aumenta la temperatura superficial del mar y baja su productividad primaria (Fig. 2) (Escalante *et al.*, 2013). El GC también cuenta con una variación interanual proveniente de cambios climatológicos como son las oscilaciones decadales de El niño y La Niña, a los que se les atribuye efectos como baja de nutrientes, aumento en la temperatura superficial del mar en caso de ENSO (Escalante *et al.*, 2013).

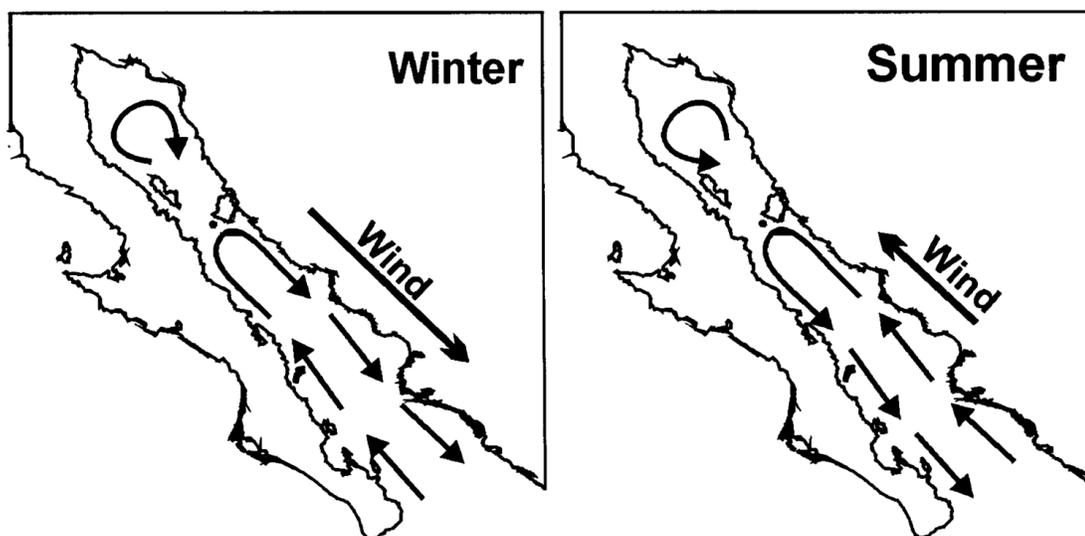


Figura 2. Sistema general de corrientes y vientos (flechas) para el Golfo de California. Giros anticiclónicos en invierno (izquierda), giros ciclónicos en verano (derecha) (Tomado de Lluch-Cota *et al.*, 1999).

2.4 Patrones genético-poblacionales en el GC

Existen diversos estudios en el GC que han evaluado los patrones de estructura genética poblacional de diversas especies, en los cuales se indica que los eventos históricos o contemporáneos como corrientes oceanográficas han moldeado dichos patrones. La detección de patrones de estructuración genética en el GC se han basado en marcadores moleculares tradicionales que nos han permitido evaluar probablemente patrones parciales. Se han reportado múltiples patrones de estructuración genética en esta zona que van desde homogeneidad genética o panmixia (*Lythrypnus dalli*, Mac-Loughlin, 2019; *Callinectes bellicosus*, Pfeiler *et al.*, 2005; *Ophioblennius steindachneri*, Riginos y Victor, 2001) hasta cierto grado de estructuración (*Hyporthodus acanthistius*, Beldade *et al.*, 2014; *Litopenaeus stylirostris*, Calderòn-Aguilera *et al.*, 2003; *Ligia*, Hurtado *et al.*, 2010; *Axoclinus nigricaudus*, Riginos y Nachman, 2001) e incluso diferencias entre el GC y el océano Pacífico (*Mustelus henlei*, Chabot *et al.*, 2015; *Zostera marina* L., Muñiz-

Salazar *et al.*, 2005; *Hippocampus ingens*, Saarman *et al.*, 2010; *Porites panamensis*, Saavedra-Sotelo *et al.*, 2013).

De manera general, la homogeneidad genética dentro del golfo se ha asociado a organismos marinos con larvas pelágicas de larga duración, ya que presentan un mayor potencial para la dispersión (flujo genético) como es el caso de dos especies de moluscos (*Nerita scabricosta* y *N. funiculata*) en donde utilizando un fragmento de COI encuentran panmixia a lo largo de ocho sitios de muestreo dentro del golfo y dos de la costa occidental de la Península de Baja California atribuyéndolo a altos niveles de flujo genético entre estas dos áreas por acción de las corrientes (Hurtado *et al.*, 2007).

Sin embargo, también se ha reportado patrones de diferenciación genética dentro del GC, los cuales se ha atribuido a la duración y distribución de las larvas pelágicas, a la distancia geográfica entre regiones (IBD) y a los patrones de corriente los cuales pueden crear barreras a la dispersión larvaria. Por ejemplo, en el pez *Axoclinus nigricaudus* se evaluó un fragmento de la región control del ADNm encontrando discontinuidad genética a lo largo de nueve sitios del GC, esto se atribuyó a una combinación de factores ambientales como la distancia geográfica y disponibilidad de hábitat para la especie (Riginos y Nachman, 2001).

Otro factor que moldea la estructura genética son las corrientes oceanográficas (procesos de mesoescala), por lo que una gran cantidad de estudios se han enfocado en modelación tridimensional para la predicción del destino final de larvas al incorporar variables ambientales y climatológicas (Backhaus, 1985; Lavin y Marinone, 2003; Marinone, 2012). Por ejemplo, en el pargo rojo (*Lutjanus peru*) mediante 15 *loci* microsatélites, plantean un modelo de conectividad para el GC, encontrando una relación estrecha entre los patrones de estructura genética y las corrientes estacionales teniendo en cuenta la duración y temporada en que ocurre el desove de esta especie (Munguía-Vega *et al.*, 2018a-b).

Por último, eventos históricos podrían moldear la estructura de algunas especies, por ejemplo, mediante el análisis de ADN-mt, estudiaron los efectos de vicarianza en 12 especies de peces presentes en el océano Pacífico y al norte del GC sin que estuvieran presentes al sur del GC. Los resultados indicaron diferenciación entre las dos regiones, pero con cierto grado de flujo genético (Bernardi *et al.*, 2003). Estos patrones de estructura genética se ha observado en otros taxa, por ejemplo, Riginos (2005), encontró una estructura espacial de norte y sur del GC en 5 especies de peces costeros que coincide con la estructura que muestran mamíferos y reptiles en la Península de Baja California atribuyéndolo a eventos geológicos y demográficos históricos.

2.4.1 Estudios de genética poblacional en peneidos del GC

Uno de los primeros estudios de genética poblacional en el camarón azul, evaluaron la estructura poblacional en las localidades de Santa Clara, Bahía Kino, Guaymas, Bahía Lobos, Huivuilai y Huatabampo, mediante métodos moleculares basados en PCR con bajas condiciones de especificidad (RAPD o Randomly Amplified Polymorphic DNA, por sus siglas en Inglés). Los resultados mostraron una estructura en forma de parches y no encontraron un patrón de aislamiento por distancia. Lo que fue atribuido al abrupto cambio en el tipo de sedimento entre Punta Lesna y Bahía Kino, así como las grandes islas (isla Ángel de la Guarda e isla Tiburón). Este hallazgo también fue atribuido al patrón de corrientes oceanográficas con sistemas de mesoescalas como giros o remolinos, los cuales mantienen las temperaturas superficiales del mar y dividen al GC en 5 regiones (alto golfo, zona de transición, centro del golfo, segunda zona de transición y boca del golfo) (Aubert y Lightner, 2000).

Un estudio de variabilidad genética en *F. californiensis* y *L. stylirostris* a partir de la variación de aloenzimas reveló una clina gradual incrementando la variabilidad genética de norte a sur, y una distribución heterogénea en la frecuencia de los genotipos en ambas especies atribuyéndolo a los diferentes hábitats de cada

localidad (alto golfo, medio golfo, bajo golfo y boca del golfo) (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000). Finalmente, un estudio reciente reportó homogeneidad genética con elevados niveles de diversidad genética en términos de diversidad haplotípica y nucleotídica con el uso del gen mitocondrial 16S en 11 localidades (10 localidades del golfo y una de océano Pacífico) (Mora-Martínez, 2017).

En el camarón blanco (*L. vannamei*), se ha reportado una baja variabilidad genética mitocondrial utilizando los genes 16S, ATP-8, ATP-6, COI, COIII y la región control, este patrón reportado puede atribuirse al bajo número de individuos utilizados ($n = 6$), sin embargo, se evaluaron marcadores de tipo microsatélite y aumentaron el número de individuos (49 por localidad), en donde se encontró diferenciación poblacional entre todas las localidades (Sinaloa, Guerrero, Guatemala y Panamá), concluyendo que las localidades estudiadas deben considerarse como poblaciones separadas (Valles-Jiménez *et al.*, 2005).

Estos estudios de genética de poblaciones utilizando marcadores convencionales como son aloenzimas, RAPDs, ADNmt y microsatélites han mostrado patrones discrepantes en peneidos a diferentes escalas espaciales. Sin embargo, es importante resaltar que estos estudios se han realizado con un bajo número de individuos y con marcadores de bajo poder estadístico para distinguir niveles sutiles de estructura poblacional. Aunado a esto, a la fecha, las metodologías utilizadas se encuentran en desuso debido a errores técnicos y analíticos implícitos en el desarrollo de estas. Esto genera una elevada incertidumbre del posible patrón de estructuración poblacional de *L. stylirostris*, la cual puede ser solventada aplicando un estudio con mayor cobertura genómica y espacial. Dado lo anterior, en el presente estudio se evaluó la estructura genómico poblacional *L. stylirostris* y se determinó de manera precisa los stocks de la especie en el GC y costa occidental de Baja California Sur.

3. JUSTIFICACIÓN

El camarón azul (*L. stylirostris*) es uno de los recursos pesqueros de mayor importancia comercial, y su pesquería es una fuente de empleo y sustento para muchas comunidades que habitan en las costas del noroeste Mexicano. Este recurso ha reportado mantener una pesquería sustentable, sin embargo, ante las variaciones ambientales, es un recurso susceptible a los efectos de sobreexplotación, enfermedades y pérdidas de hábitat. Actualmente, la pesquería del camarón azul se compone de cuatro stocks pesqueros para su manejo en el noroeste de México: AGC, CG, BG y océano Pacífico. Sin embargo, no se tiene certeza de la delimitación biológica de dichos stocks, lo que repercute de manera directa en la evaluación pesquera en la determinación de puntos de referencia de la pesquería y, por ende, en las medidas de manejo que se propongan para lograr la sustentabilidad de la pesquería. Aunado a lo anterior, se desconoce el potencial efecto de la heterogeneidad ambiental sobre la diversidad adaptativa de *L. stylirostris*, ya que es importante conocer y conservar toda la variación para mantener la productividad del recurso.

Existen pocos estudios sobre genética poblacional del camarón azul a partir de organismos silvestres, en algunos de estos se ha determinado la existencia de dos grupos poblacionales distintos a lo largo del GC, contrario a esto, se ha reportado homogeneidad genética en la misma región; lo que indica que la estructura poblacional encontrada a la fecha es dependiente del marcador utilizado y por lo tanto el patrón poblacional es parcial hasta la fecha.

Por lo tanto, este trabajo aportará conocimiento acerca de la estructura genética espacial del camarón azul mediante el análisis de genómica poblacional a una escala geográfica mayor, lo que permitirá definir potenciales stocks poblacionales que puedan servir como base para un mejor manejo de la especie. Además, la evaluación de la variación adaptativa de la especie asociada a la heterogeneidad ambiental a lo largo del GC permitirá identificar grupos potencialmente adaptados.

4. HIPÓTESIS

Dado que se ha encontrado diferenciación genética en especies marinas que presentan un alto flujo genético a lo largo de grandes distancias geográficas en ambientes heterogéneos, el caso del camarón azul en las costas del noroeste mexicano se espera encontrar una estructura neutral asociada a las distancias geográficas, además la estructura adaptativa será moldeada por la heterogeneidad ambiental.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la estructura genómica poblacional del camarón azul (*L. stylirostris*) en la costa del noroeste de México, a través de la identificación de stocks poblacionales.

5.2 Objetivos particulares

1. Determinar la estructura poblacional neutral del camarón azul (*L. stylirostris*), en la costa noroeste de México.
2. Determinar la estructura poblacional adaptativa del camarón azul (*L. stylirostris*), en la costa noroeste de México.
3. Asociar las variables ambientales y distancia geográfica que moldean la estructura poblacional del camarón azul (*L. stylirostris*), en la costa noroeste de México.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Área de estudio

Se colectaron un total de 330 individuos adultos de *L. stylirostris*, procedentes de 11 localidades (Fig. 3), 10 localizadas en el GC (Altata (ALT), Cerro Cabezón (CC-NAV), Topolobampo (TPO), Agiabampo (AGI), Yavaros (YAV), Paredón Colorado (PC), Bahía de Lobos (BL), Guaymas (GYM), Bahía de Kino (BK), Bahía San Jorge (BSJ)) y una en el océano Pacífico (Puerto San Carlos (PSC)). Todos los individuos procedieron de donaciones de la pesca artesanal del periodo de pesca del 2016. El intervalo de tallas del muestreo se ubicó entre 114 mm y 232 mm, con una longitud promedio de 16.28 cm. Las muestras consistieron en tejido muscular del primer segmento abdominal, preservadas en etanol al 96 % para su traslado a laboratorio.

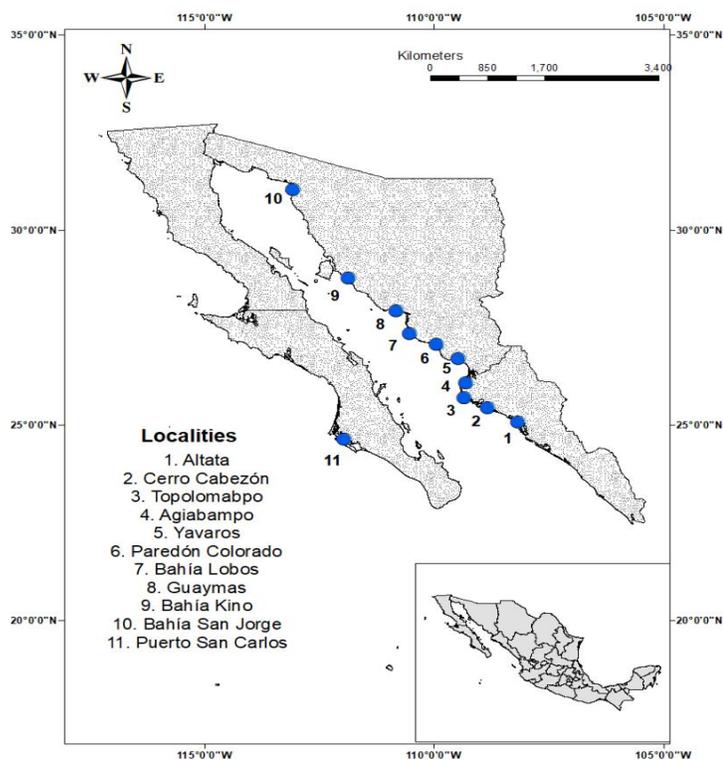


Figura 3. Sitios de muestreo de camarón azul (*L. stylirostris*).

6.2 Trabajo de laboratorio

6.2.1 Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN total de cada organismo mediante el método de cloroformo-álcool isoamílico siguiendo el protocolo de Sambrook *et al.* (1989). La concentración de ADN se cuantificó mediante espectrofotometría en NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific) y fluorometría con un Qubit™ 4.0 (Thermo Fisher Scientific). La integridad del ADN se verificó mediante electroforesis en geles de agarosa-Synergel™ al 1 %, usando como referencia de peso molecular 1 Kb Plus (Thermo Fisher Scientific). Los geles se revelaron con SYBR™ Gold (Thermo Fisher Scientific), se analizaron y documentaron en un fotodocumentador ChemiDoc™ (BIO-RAD).

6.2.2 Elaboración de librerías genómicas ddRAD

Se elaboraron librerías genómicas siguiendo la técnica de ddRAD-Seq descrita por Peterson *et al.* (2012) con ligeras modificaciones. El primer paso consistió en una doble digestión a cada muestra de ADN con dos enzimas de restricción, una de corte poco frecuente EcoR1-HF (5'-G|AATTC-3'; New England BioLabs®) y otra de corte frecuente Msp1 (5'-C|CGG-3'; New England BioLabs®). Las digestiones se llevaron a cabo en un volumen de 30 µL con 500 ng de ADN, 1X de Buffer CutSmart® (New England BioLabs®) y 10 U de cada enzima. Las reacciones de digestión se incubaron toda la noche a temperatura ambiente. Todas las digestiones se purificaron con 1.5X AMPure XP beads (Beckman Coulter) siguiendo las instrucciones del fabricante, recuperando el ADN en 30 µL de TE a 0.1X.

Posteriormente, se realizó la ligación de adaptadores específicos para unirse a los extremos resultantes de la digestión: adaptador **P1** que es complementario al

extremo cohesivo del corte de *EcoR1*-HF y contiene un barcode específico (48 diferentes barcodes), y un adaptador **P2** complementario al extremo cohesivo de *Msp1* y con una secuencia común; la mezcla de ligación se realizó en un volumen total de 40 μL con 30 μL de ADN digerido, 1X de buffer T4 ligasa (New England BioLabs®), 100 U de T4 DNA ligasa (New England BioLabs®) y 2 mM de cada adaptador. Las reacciones se incubaron toda la noche a temperatura ambiente, el proceso de ligación se detuvo colocando las reacciones a 65 °C por 10 minutos. Los productos ligados fueron purificados con 1.5 X AMPure XP beads (Beckman Coulter) y recuperados en 30 μL de TE a 0.1 X. Para verificar la correcta ligación de los adaptadores, se realizó una PCR (PCR 1) la cual se llevó a cabo en un volumen de 12.5 μL con 1X Gotaq® (Promega), 0.8 mM de cada primer Illumina (F 5' - AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTCTTTCCCTACACGACG - 3') (R 5' - CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATCGTGATGTGACTGGAGTTCAGACGTGTG C -3') y 1 μL del ADN ligado. El programa de PCR consistió en: desnaturalización inicial 95 °C por 2 min, seguido de 20 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 30 s, y 72 °C por 45 s. El producto de PCR fue visualizado en geles de agarosa-Synergel™ al 2 %.

Una vez verificada la ligación se realizó una cuantificación por fluorometría con un Qubit™ 4 Fluorometer (Thermo Scientific®) para preparar una mezcla equimolar de 48 individuos con diferentes barcodes. Una vez elaborado cada mezcla fue concentrada con 1.5 X AMPure XP beads (Beckman Coulter) y se resuspendió en 30 μL de TE 0.1 X. En total se realizaron 4 mezclas con 48 individuos en cada uno. A cada mezcla se le realizó una selección de fragmentos (aproximadamente 376 pb) mediante Pippin Prep (Sage Science) siguiendo el protocolo del fabricante. A partir del producto de la selección de fragmentos, se llevó a cabo un segundo PCR (PCR 2) con el fin de enriquecer las librerías, agregar un índice específico a cada mezcla, así como los adaptadores de secuenciación Illumina. Se realizaron 8 reacciones de PCR por cada mezcla; las reacciones de PCR se

llevaron a cabo en un volumen de 20 μ L con 1X de Buffer Phusion-HF (New England BioLabs®), 0.5 U de Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase (New England BioLabs®), 0.5 mM de cada primer (Forward PCR1) (Reverse PCR2_idx_1-ATCACG; PCR2_idx_3-SECUENCIA; PCR2_idx_4; PCR2_idx_5) y 3 μ L de ADN. Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial 95°C por 2 min y 10 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 30 s, y 72 °C por 45 s. Los productos de las 8 reacciones de PCR de cada mezcla fueron homogenizados y concentrados en un mismo tubo con 1.5X AMPure XP beads (Beckman Coulter) y eluídas en H₂O libre de endonucleasas. Las selecciones de fragmentos de las mezclas fueron verificadas en geles de agarosa-Synergel™ al 2 %. Finalmente, cada mezcla enriquecida fue cuantificada por fluorometría (Qubit™ 4 Fluorometer, Thermo Scientific®) para poder realizar una mezcla equimolar en la librería final. La librería final consistió en la combinación de cuatro mezclas con 176 organismos en total, de las cuales dos muestras eran replicas para estimar el error de genotipificación. La librería final fue enviada a secuenciar a un prestador de servicios NOVOGENE (Sacramento, CA) en una línea de secuenciación Illumina Hiseq-4000 con lecturas pareadas de 150 pb.

6.3 Análisis bioinformático

6.3.1 Limpieza, filtrado e identificación de SNPs.

Una vez recibidas las lecturas del secuenciador se procedió con el demultiplexado, limpieza y filtrado de calidad de las lecturas crudas, utilizando el programa **STACKS** v2.0 (Catchen *et al.*, 2013), el cual es un programa informático que hace posible construir *loci de novo* a partir de lecturas de secuencia corta, como es el caso de las lecturas generadas de la plataforma Illumina.

Al conjunto de comandos que se ejecutan dentro del programa se le denomina *pipeline*, el cual está compuesto de tres grandes procesos, el primero de ellos es

con la función ***process_radtags*** con la cual se demultiplexa la información de las lecturas del secuenciador y se agrupan de acuerdo con la combinación específica de barcode + index para cada individuo. En este mismo proceso se seleccionaron lecturas de alta calidad, se usó un valor de Phred33 > 40 (***-q***), esto quiere decir que la probabilidad en el error de una base sea de 1 en 10,000, se eliminaron los barcodes ambiguos (***-r***), se removieron bases que estuvieran mal llamadas (***-c***), se identificaron y recuperaron los barcodes con su respectivo índice para la identificación de cada individuo y, por último, se realizó un recorte de las lecturas a 140 pb (***-t***) esto con el fin de eliminar posibles errores de secuenciación al final de las lecturas.

Para ensamblar las lecturas obtenidas, se utilizó el comando ***denovo_map.pl***, esta función es particularmente útil cuando no se cuenta con un genoma de referencia como es el caso del camarón azul, ya que, sirve para ensamblar *loci* de novo. ***denovo_map.pl*** ejecuta de manera consecutiva las funciones núcleo de los módulos de stacks (*ustacks*, *cstacks*, *sstacks*, *tsv2bam*, *gstacks*). Dentro de este comando se fijan tres parámetros principales, profundidad mínima de secuencias idénticas para formar un stack (***m***), número máximo de disimilitudes entre secuencias para considerarlo un *locus* putativo (***M***) y número máximo de disimilitudes permitidas entre los stacks formados (***n***), dichos parámetros determinan el potencial número de *loci* y SNPs retenidos.

Para filtrar los SNPs se utilizó el comando ***populations***, el cual se basa en el número mínimo de localidades en donde cada *locus* creado anteriormente debe estar presente (***p***), el *locus* debía encontrarse en el 80% de los individuos para tomarse como verdadero (***r***) y finalmente un 0.05 en la frecuencia del alelo menor(***min_maf***).

Como último filtro, una vez que se obtuvieron los SNPs iniciales, se utilizó el programa ***VCFtools*** v3.0 (Danecek *et al.*, 2011) con el comando ***-missing-indv*** para determinar SNPs faltantes a nivel de individuo y con ello eliminar aquellos

individuos que presenten un $\geq 30\%$ de datos faltantes en su genotipo, esto debido a que podría afectar el resultado en los siguientes análisis.

6.3.2 Detección de SNPs *outliers*

Se realizó la identificación de *loci* candidatos a selección (aquellos que exceden los niveles de diferenciación poblacional bajo el supuesto de neutralidad) mediante dos métodos independientes. El primer método se realizó con el programa **BAYESCAN** v2.1 (Foll y Gaggiotti, 2008), el cual utiliza un enfoque bayesiano que tiene como objetivo identificar *loci* atípicos basado en un modelo de regresión logística que descompone los valores de F_{ST} en un componente específico del *locus* (selección) y un componente específico de la población (demográfico) (Foll y Gaggiotti, 2008). El análisis se realizó utilizando 20 corridas piloto con 5,000 iteraciones cada una para el componente del *locus*, seguido de 50,000 iteraciones para el componente demográfico. Los SNPs *outliers* con un valor PO superior a 0.05 se consideraron como *loci* candidatos a selección.

El segundo enfoque fue realizado con el programa **ARLEQUIN** v.3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2015), el cual utiliza simulaciones coalescentes para hacer una distribución nula de estadísticos de F, generando valores de probabilidad (P) para cada uno de los SNPs. Se utilizó el modelo finito de islas con 100,000 simulaciones y 100 repeticiones por grupo considerando como SNPs *outliers* aquellos que estuvieran sobre el cuantil del 99 % de la distribución de F_{ST} ($P = 0.01$).

Para determinar si los SNPs *outliers* encontrados estaban asociados con funciones biológicas, se realizó una búsqueda de homología en la base de datos pública NCBI usando la opción BLASTn.

6.3.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg

Para evaluar la neutralidad de los SNPs, a toda la base de datos se le aplicó la prueba exacta de Fisher usando el coeficiente de endogamia (F_{IS}) para diferenciar aquellos *loci* en equilibrio de Hardy-Weinberg (neutrales). El modelo de equilibrio tiene como supuestos tamaños efectivos poblacionales grandes, apareamiento aleatorio, no hay mutación, ni deriva génica, ni selección natural, lo que permite un equilibrio en las frecuencias alélicas y así probar el supuesto de neutralidad en genética de poblaciones. Dicha prueba se corrió en el programa **ARLEQUIN** v3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2015), *locus por locus* con 1,000,000 de cadenas de Markov y 100,000 dememorizaciones.

6.4 Análisis de estructura genómico poblacional

Para evaluar los patrones de estructura genética neutral y la variación genética adaptativa, se separaron dos bases de datos: SNPs neutrales y SNPs *outliers*, sin embargo, se describe la metodología como una sola y en los resultados se desglosan por conjunto de *loci*. Cada uno de los análisis se describen a continuación.

6.4.1 Diferenciación genética poblacional (F_{ST})

Para determinar la variación genética entre poblaciones se realizaron análisis de diferenciación pareada entre localidades mediante un estimador de F_{ST} (Weir y Cockerham, 1984); este análisis mide las frecuencias alélicas de los individuos entre las poblaciones. Los valores de F_{ST} van de 0 a 1 (los valores negativos son considerados como cero) donde valores cercanos o iguales a 0 es baja o nula diferenciación genética y valores cercanos o iguales a 1 significa totalmente diferentes. Para evaluar la significancia de las comparaciones pareadas (hipótesis nula $F_{ST} = 0$), se realizaron 10,000 permutaciones con un valor de significancia de $p \leq 0.05$ en el programa **ARLEQUIN** v3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2015). Los valores de p se ajustaron realizando una corrección de Bonferroni de pruebas múltiples (Rice, 1989).

6.4.2 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP)

Un segundo enfoque para evaluar el patrón de estructura genética fue mediante un ADCP, esta prueba tiene como objetivo maximizar la variación entre grupos mientras que minimiza dicha variación dentro de los grupos y así generar una estructura a partir de datos genéticos. Para realizar el ADCP se utilizó el ambiente de programación **R** v3.4.3 (R Core Team, 2014), con la paquetería **adegenet** v.2.1.1 (Jombart, 2010), usando la función *find.clusters*. Se evaluó el número óptimo de grupos con el método de Criterio de Información Bayesiano (BIC por sus siglas en inglés) seguido se usó la función *cross.validation* (web server) con 100 réplicas, este proceso es útil para identificar el número óptimo de componente principales que explican el modelo con la capacidad predictiva más alta, para así al final obtener un gráfico con los grupos más probables.

6.4.3 Análisis de clúster

Un tercer enfoque para evaluar el patrón de estructura genética se realizó mediante análisis de clusters con el programa **STRUCTURE** v2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000), el cual utiliza un algoritmo para inferir el número putativo de grupos genéticos (valor de K) más probable a partir de datos genotípicos. Asume un modelo en el cual hay K número de poblaciones y cada una está caracterizada por un set de frecuencias alélicas para cada *locus*. Los individuos son asignados por probabilidades a los grupos genéticos, o uno dos o más grupos si sus genotipos indican que están mezclados. Para realizar el análisis se usó un modelo de mezcla (*admixture*) ya que, permite que los individuos tengan múltiples orígenes poblacionales. El rango de posibles grupos (K) fue de 1 a 9 (número de localidades) y para cada K se repitió 5 veces, con un calentamiento de 10,000 iteraciones y una longitud de iteraciones de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) de 100,000 iteraciones.

Con los resultados obtenidos se utilizó el programa web **STRUCTURE HARVESTER** v0.6.94 (Earl y VonHoldt, 2012) con la finalidad de evaluar la probabilidad acumulada y la probabilidad posterior para cada valor de K; para determinar el k más probable usando el estadístico de ΔK de Evanno que tuviera el valor más alto (Evanno *et al.*, 2005).

Finalmente, se utilizó el programa **CLUMMP** v1.1.2 para definir los grupos genéticos, el cual promedia las réplicas de K más probable (Jakobsson y Rosenberg, 2007), por último, se utilizó el programa **DISTRUCT** v1.1 (Rosenberg, 2004), para graficar los clusters.

6.4.4 Análisis de varianza molecular (AMOVA)

Para evaluar el grado de diferenciación genética a diferentes niveles de organización (individuos, poblaciones o grupos de poblaciones) se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés) implementado en el programa **ARLEQUÍN** v3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2015) con 10,000 permutaciones. El análisis fue utilizado con el fin de probar 2 escenarios: 1) que las grandes islas al norte del GC, así como la península de Baja California sirven como barreras físicas, lo que crea tres grupos genéticamente diferenciados (Grupo 1: BSJ; Grupo 2: ALT, CC, TPO, YAV_PC, AGI, GYM, BK; Grupo 3: PSC); 2) probar las unidades de manejo pesquero, es decir, Alto GC (BSJ), CG (YAV_PC, AGI, GYM, BK) y BG (ALT, CC, TPO), dejando fuera del golfo como otra unidad la localidad del océano Pacífico (PSC).

6.5 Aislamiento por distancia

Para evaluar el modelo de Aislamiento por Distancia (IBD, por sus siglas en Inglés), se realizó una prueba de Mantel, la prueba tiene como objetivo determinar si el patrón de estructuración con marcadores neutrales es explicado por las distancias geográficas entre localidades. Este análisis se realizó en el programa

ARLEQUIN v3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2015) utilizando 100,000 permutaciones, para probar una correlación entre dos tipos de matrices, una que incluye los valores de distancias genéticas (F_{ST}) y otra con las distancias geográficas lineales entre las localidades en kilómetros (Anexo) (obtenidas de Google Earth), del cual se obtiene un valor de significancia $p \leq 0.05$ y un gráfico de correlación.

6.6 Relación genoma ambiente

Para evaluar la relación entre el patrón de variación adaptativa y las condiciones ambientales, se obtuvieron imágenes de Temperatura Superficial del Mar (SST, por sus siglas en Inglés) y clorofila-a (Chla) del satélite AQUA MODIS comprendiendo el periodo de julio del 2002 a julio del 2017 para todo el GC y parte del océano Pacífico. A Partir de las imágenes se extrajeron los datos para los 11 sitios de muestreo, calculando promedios anuales mediante el uso del paquete raster v2.8-4 (Hijmans, 2018) de **R** v3.5.1 (R Core team, 2018), además se obtuvieron desviación estándar, rango, máximo y mínimo. Para evitar que dichas variables presenten elevados niveles de correlación se aplicó el criterio de inflación de varianza (< 4) para determinar el conjunto de variables menos correlacionadas.

Finalmente, se utilizó un análisis de redundancia, este tipo de análisis es de asociación genoma-ambiente que se basa en la correlación entre las frecuencias alélicas y las variables ambientales seleccionadas. El análisis de redundancia es un modelo multivariado de ordenamiento de variación genética para maximizar la relación con la variación ambiental, dicho análisis se realizó con el paquete **vegan** v2.5-2 (Oksanen *et al.*, 2018) en **R** v3.5.1 (R Core team, 2018). Debido a que todas las variables proceden de un mismo valor, presentaron un elevado valor de correlación entre ellas, se utilizó un subgrupo de variables cuyo Factor de Inflación de la Varianza (VIF, por sus siglas en Inglés) no fuera mayor a 4, lo que asumimos con este valor es que no estén correlacionadas.

7. RESULTADOS

7.1 Trabajo de laboratorio

7.1.1 Extracción de ADN

De las 330 muestras procesadas se seleccionaron aquellas que rindieron una concentración mayor a 50 ng/μL de ADN, con un valor promedio de 260/280 y 260/230 de 1.90 y 2.10, respectivamente. Como se muestra en la figura 4, el ADN obtenido mostró buena integridad y un alto peso molecular.



Figura 4. Patrón electroforético de ADN total de camarón azul, extraído mediante el método de cloroformo-álcool isoamílico, usado en la elaboración de librerías genómicas. Carriles: LS001 a LS012, 250 ng de ADN (diferentes individuos); carril derecho, escalera de 1 kb (Thermo Fisher®). Gel de agarosa-Synergel™ 1 % en TE, teñido con SYBR™ Gold (Thermo Fisher Scientific).

Elaboración de librerías genómicas ddRAD

De las 330 muestras procesadas, se seleccionaron 192 (Tabla I) que reunieron las características mencionadas en el párrafo anterior y fueron divididas en dos placas (cada una con 96 individuos). Cada placa a su vez se dividió en dos para usar un total de cuatro *index* combinando los 48 *barcodes* (descritos en Peterson *et al.*, 2012).

Tabla I. Tamaño de muestra por localidad (ID: abreviación de localidad; n: tamaño de muestra).

Localidad	ID	n
Altata	ALT	20
Cerro Cabezón	CC	18
Topolobampo	TPO	16
Agiabampo	AGI	16
Yavaros	YAV	16
Paredón Colorado	PC	16
Bahía Lobos	BL	16
Guaymas	GYM	16
Bahía Kino	BK	18
Bahía San Jorge	BSJ	20
Puerto San Carlos	PSC	20
Total		192

Durante el proceso de digestión-ligación se eliminaron 16 muestras (Tabla II), que fallaron en el proceso. En la figura 5 se muestra un ejemplo del perfil electroforético de los productos de ligación después de realizar el primer PCR (PCR1). Al centro del gel se muestra la escalera de peso molecular y, en el recuadro, una muestra con ligación no exitosa.

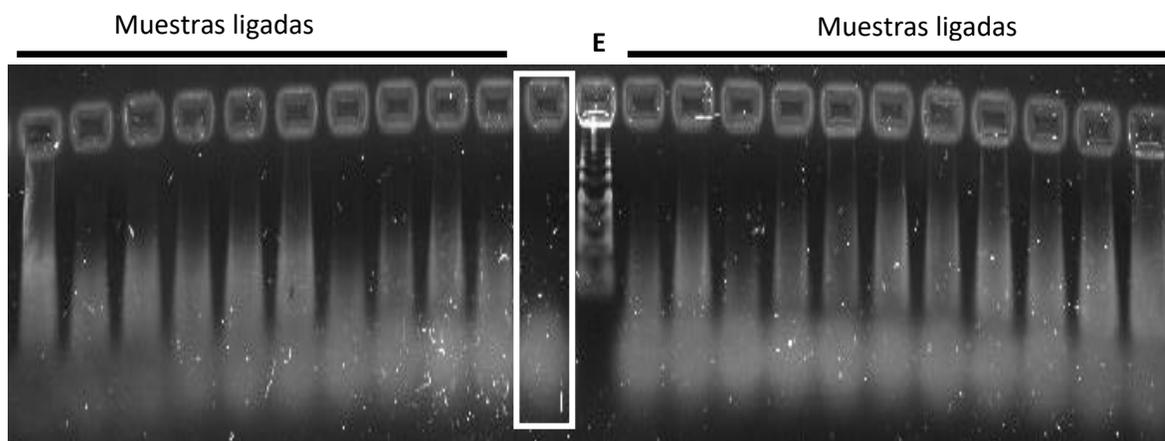


Figura 5. Perfil electroforético de productos de ligación después de realizar el primer PCR (PCR1). Al centro (E), escalera 1kb Plus (Thermo Fisher®); recuadro, ejemplo de muestras eliminadas del análisis. Gel de agarosa-Synergel™ 1 % en TE, teñido con SYBR™ Gold (Thermo Fisher Scientific).

Después de la digestión-ligación se seleccionó un intervalo de fragmentos de 344 pb a 408 pb; la selección se corroboró mediante PCR (PCR 2) (Fig. 6). La selección del tamaño de los fragmentos fue exitosa con una banda de aproximadamente 450 pb.

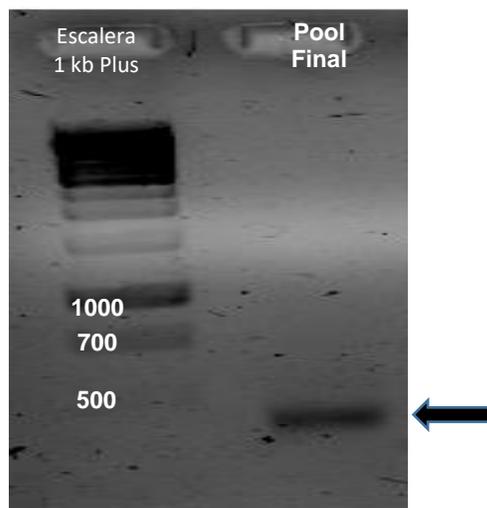


Figura 6. Perfil electroforético de producto del PCR 2, que corresponde al pool final de ADN utilizado para la construcción de las librerías. A la izquierda se muestra la escalera 1kb Plus y a la derecha la librería genómica terminada con peso molecular por debajo de los 500 pb (flecha). Gel de agarosa-Synergel™ 1 % en TE, teñido con SYBR™ Gold (Thermo Fisher Scientific).

7.2 Análisis bioinformático

7.2.1 Limpieza, filtrado e identificación de SNPs

Se obtuvieron un total de **602,676,212** (100 %) lecturas pair-end de una sola línea de secuenciación HiSeq4000. Se retuvieron un total de **544,984,351** (90.6 %) que pasaron los filtros de calidad de *process_radtags*, eliminándose **24,534,040** por presentar barcode ambiguos, **303,825** por baja calidad y **33,933,718** debido a que no se reconoció el sitio de corte RAD. Para posteriores análisis se eliminaron aquellos individuos con menos de 750,000 lecturas, ya que pueden no estar bien

representadas en la población y se eliminaron aquellos individuos mayores a 20 millones de lecturas ya que podría tratarse de duplicados de PCR (Tabla II).

Tabla II. Estadísticas del proceso de filtrado de lecturas para control de calidad.

ID	n	# muestras eliminadas pool	# muestras eliminadas process_radtags	n final
ALT	20	3	6	11
CC	16	4	2	10
TPO	16	2	4	10
AGI	16	1	4	11
YAV	16	3	9	4
PC	16	1	6	9
BL	16	0	2	14
GYM	16	2	1	13
BK	18	0	2	16
BSJ	20	0	1	19
PSC	20	0	2	18
Total	192	16	39	135

Nota. Número de muestra inicial (n), el número de muestras que se eliminaron durante la elaboración de librerías (# muestras eliminadas pool), el número de muestras eliminadas en el primer proceso del pipeline de STACKS (# muestras eliminadas *process_radtags*), el número de muestras que pasaron los primeros filtros de calidad (n final).

Debido al bajo número de muestras entre Yavaros (YAV) y Paredón Colorado (PC), se decidió conjuntar estas localidades (Tabla II), además de estar cercanas geográficamente (~ 50 Km).

Para evaluar el impacto de los cuatro parámetros principales (*m*, *M*, *n* y *p*) utilizados en *denovo_map.pl* y *populations* de STACKS, se realizaron 27 combinaciones diferentes, se eligieron los valores de parámetros *M* 3, *m* 5, *n* 4, *p* 9, ya que presentaron el grupo de datos con mayor número de SNPs (755). Finalmente, como último filtro de calidad, se eliminaron los individuos que tuvieron un valor de genotipos faltantes mayor al 30% (Tabla III), resultado la eliminación de BL. Finalmente, se obtuvieron 755 SNPs en **116** individuos de 9 localidades del GC (ALT, CC, TPO, AGI, YAV-PC, GYM, BK, BSJ y PSC) los cuales fueron utilizados para los siguientes análisis.

Tabla III. Resumen por localidad de muestras eliminadas por datos faltantes.

ID	n	n muestras eliminadas por datos faltantes	n final
ALT	11	0	11
CC	10	1	9
TPO	10	2	8
AGI	11	1	10
YAV-PC	13	0	13
BL	14	14	0
GYM	13	0	12
BK	16	0	16
BSJ	19	0	19
PSC	18	0	18
Total	135	18	116

7.2.2 Detección de *SNPs outliers*

El programa **Bayescan** detectó 6 marcadores *outliers* los cuales se pueden observar en la figura 7a ubicados a la derecha de la línea vertical del valor de $\log(\text{PO})$ (probabilidad posterior) mayor a 0.6. Por otro lado, **Arlequin** detectó 5 *loci outliers* bajo selección divergente, como se muestra en la figura 7b, por arriba del intervalo del 99% de confianza compartiendo 3 marcadores entre ambos métodos. Ninguno de los *loci outliers* presentó homología con funciones biológicas reportadas.

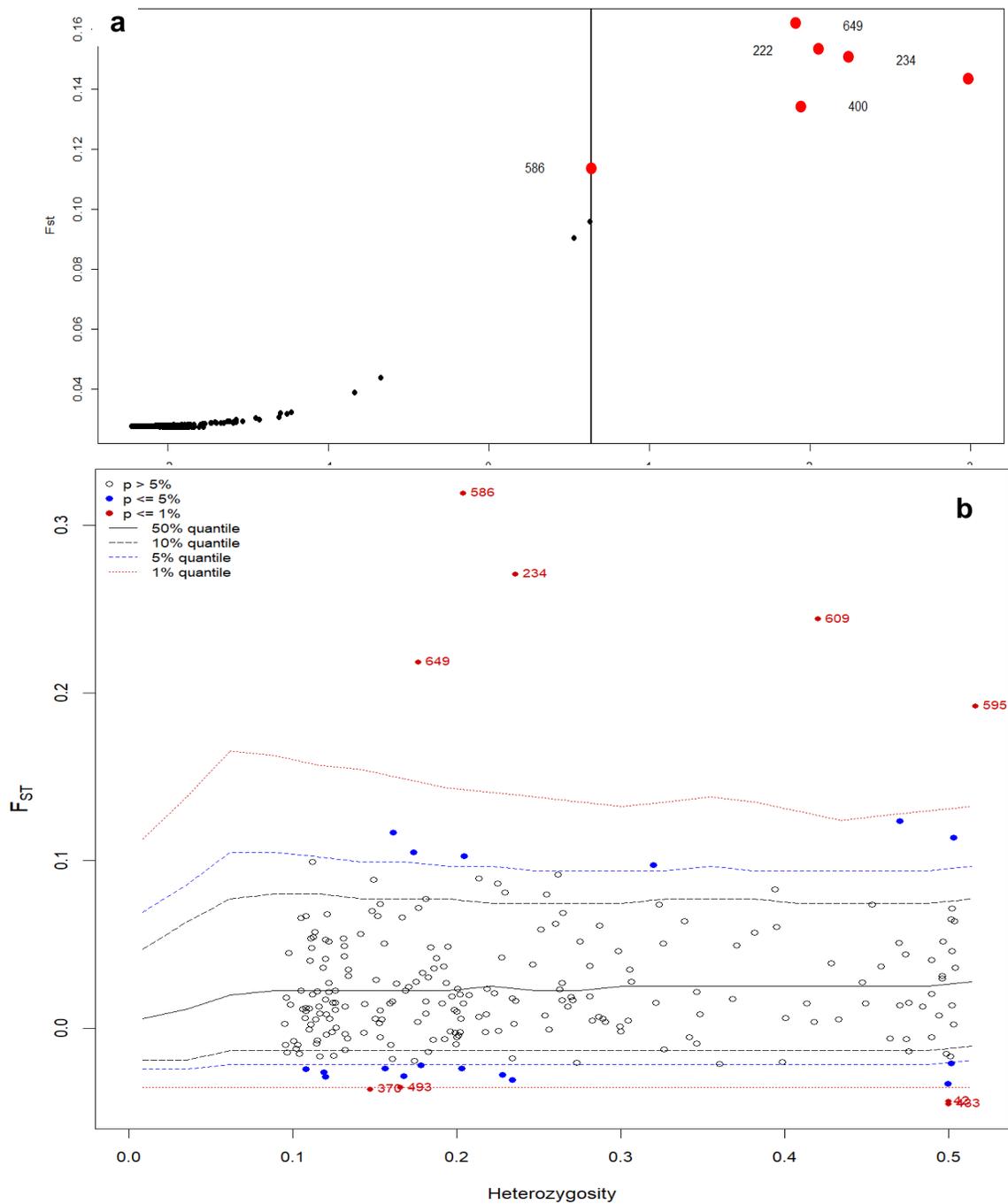


Figura 7. Detección de *SNPs* outliers. (a) Los *loci* bajo supuesta selección a la derecha de la marca $\log(\text{PO})$ (probabilidad posterior) detectados por Bayescan; (b) loci en rojo se encuentran bajo selección divergente y en color azul bajo selección balanceadora identificados por Arlequin.

7.2.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg

Se realizó la detección de marcadores en equilibrio de Hardy-Weinberg de la base total de 755 *loci* resultando 691 *loci* en equilibrio de Hardy-Weinberg por lo que estos *loci* fueron considerados como neutrales para los posteriores análisis.

7.3 Análisis de estructura genómico poblacional (*SNPs* neutrales)

En esta sección se abordarán los análisis de estructura poblacional (F_{ST} , DACP, Análisis de Cluster y AMOVA) para el objetivo particular 1, que corresponde a la estructura genética utilizando solo *loci* neutrales, es decir aquellos *loci* en equilibrio de Hardy-Weinberg (691 *loci* en 116 individuos distribuidos en 9 localidades).

7.3.1 Diferenciación genética poblacional (F_{ST})

Los valores pareados de F_{ST} mostraron un rango de 0.0017 (GYM-TPO) hasta 0.042 (PC_YAV-PSC). Se detectaron diferencias significativas en valores de F_{ST} de la localidad de BSJ con casi todas las localidades ($p \leq 0.001$) con BK ($p \geq 0.001$). Así mismo la localidad de PSC presentó diferencias significativas ($p \leq 0.001$) con las localidades de la zona centro-norte del GC (Tabla IV); los valores mostrados diferencias significativas después de la corrección secuencial de Bonferroni ($p \leq 0.001$).

Tabla IV. Análisis pareado de F_{ST} para el set de 691 *loci* neutrales de camarón azul (*L. stylirostris*). Por debajo de la diagonal se muestran los valores de F_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p después de la corrección secuencial de Bonferroni ($p \leq 0.001$).

	PSC	ALT	CC	TPO	AGI	PC_YAV	GYM	BK	BSJ
PSC	*	0.005	0.048	0.056	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000
ALT	0.027	*	0.119	0.371	0.229	0.156	0.021	0.058	0.000
CC	0.019	0.015	*	0.883	0.308	0.026	0.516	0.169	0.000
TPO	0.025	0.014	0.002	*	0.587	0.699	0.930	0.678	0.000
AGI	0.026	0.017	0.013	0.014	*	0.032	0.035	0.270	0.001
PC_YAV	0.042	0.016	0.023	0.007	0.027	*	0.060	0.390	0.000
GYM	0.041	0.025	0.007	0.001	0.028	0.020	*	0.183	0.000
BK	0.016	0.017	0.012	0.006	0.013	0.008	0.013	*	0.181
BSJ	0.031	0.035	0.029	0.034	0.030	0.032	0.038	0.009	*

Nota: Los valores significativos (<0.001) se encuentran en negritas.

7.3.2 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP)

Mediante el ADCP se lograron identificar dos grupos con el uso del BIC ($BIC = 2$), diferenciando la localidad de BSJ del resto de las localidades (Fig. 8), sin embargo, se puede observar la localidad de PSC en un cluster casi independiente. En el análisis se retuvieron 10 componentes principales (Pcs, por sus siglas en Inglés) con una probabilidad de asignación por localidad del 88%.

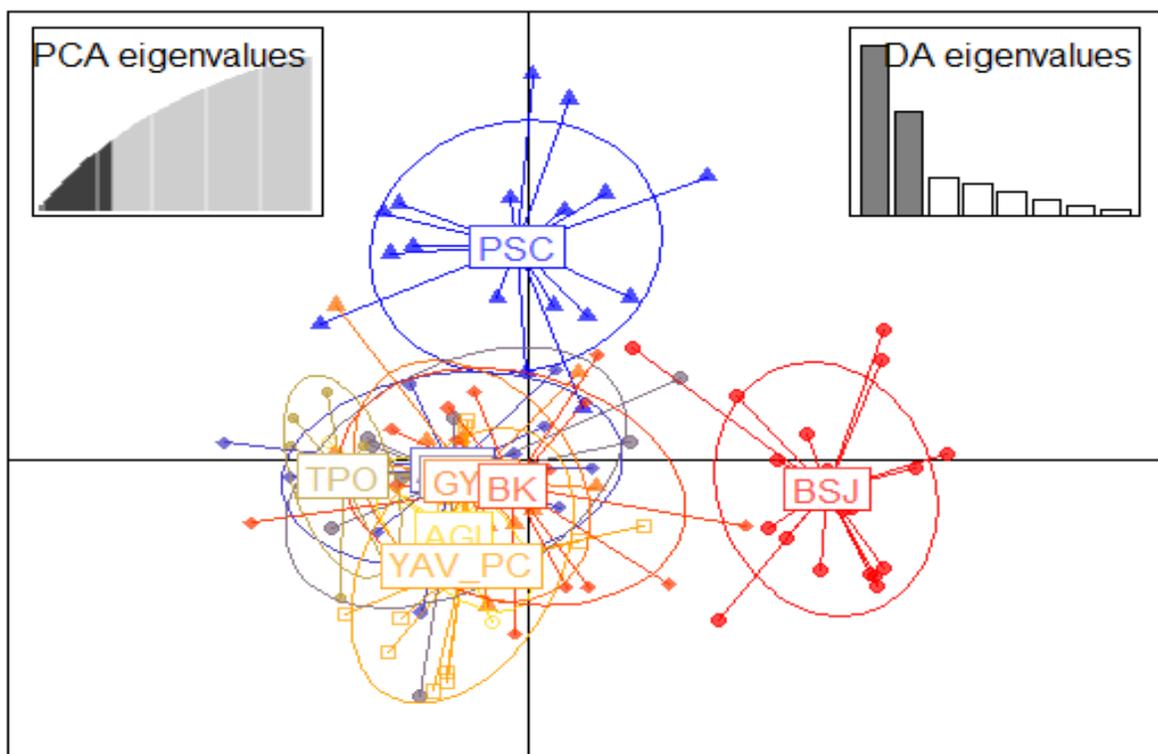


Figura 8. Análisis discriminante de componentes principales para el camarón azul (*L. stylirostris*) con el set de 691 *loci* neutrales, reteniendo 10 componentes y 2 *eigenvalues*, con una probabilidad de asignación del 88% para los grupos.

7.3.3 Análisis de clúster

El análisis de clúster implementado en **Structure** usando 691 *loci* neutrales, con el Logaritmo de K (LK) mostro que el valor más probable de clúster es 7 (Fig. 9b), sin embargo, mediante el método de ΔK presentó dos valores probables de K uno con $K=2$ y otro con $K=7$ (Fig. 9a). En la figura 9, se muestran las asignaciones de cada individuo para $K=2$ (c), a su vez se graficó $K=3$ (d) con el fin de esclarecer un posible tercer grupo detectado con los resultados de F_{ST} . Para $K=2$ (Fig. 9c) se observa un gradiente latitudinal de norte a sur, donde la localidad de BSJ parece pertenecer completamente a un solo grupo y una mezcla con las demás localidades. En el caso de $K=3$ (Fig. 9d) se observa que la parte centro-sur del GC tiene una mezcla de los tres grupos en comparación de las localidades del

AGC (BSJ) y del océano Pacífico (PSC) que conforman un grupo independiente cada una.

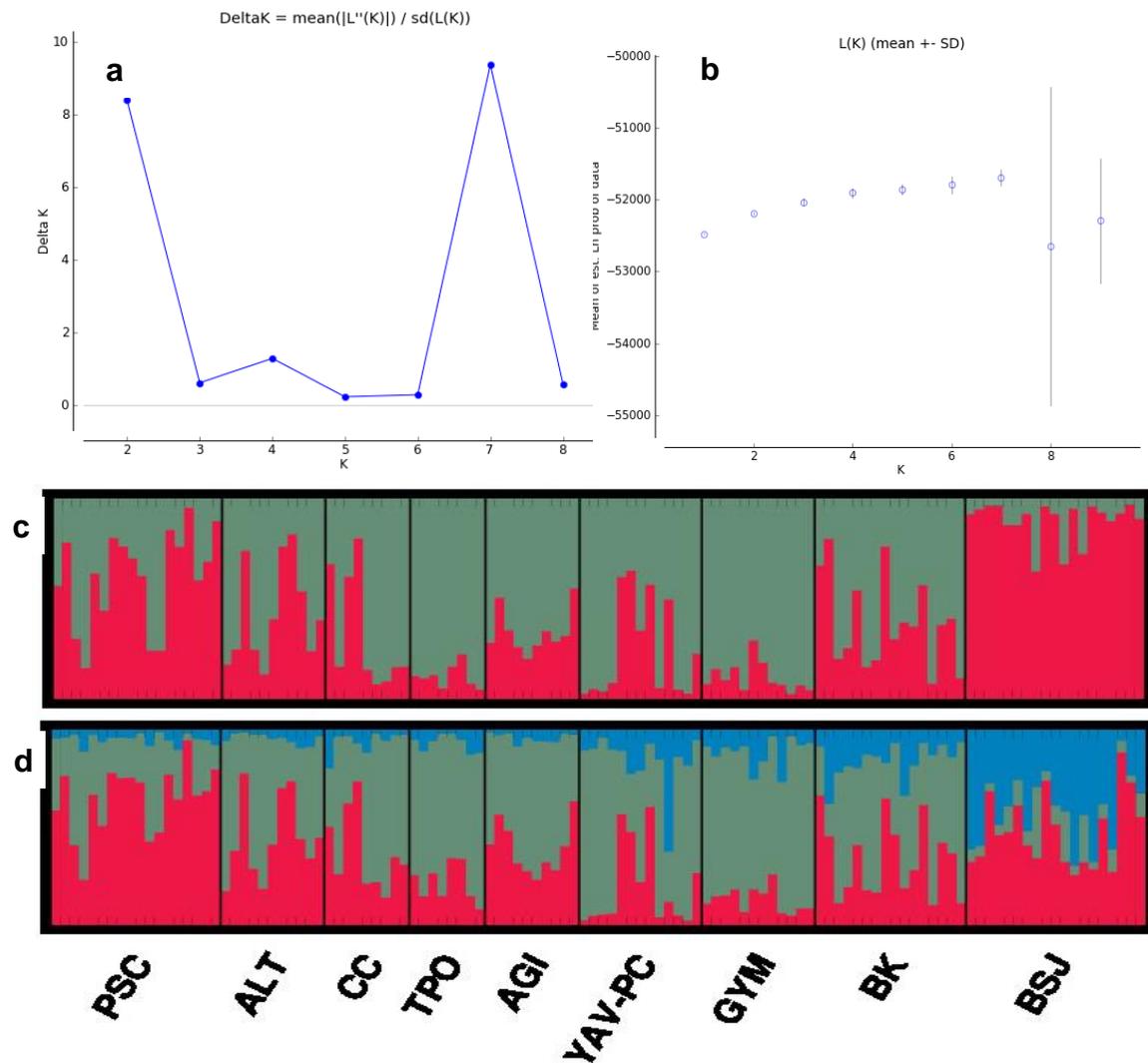


Figura 9. Análisis de cluster del camarón azul (*L. stylirostris*) para el set de marcadores neutrales de 691 *loci*. a) Número más probable de K utilizando el método de Evanno *et al.*, (2005) usando el valor de Delta K; b) Numero más probable de K utilizando el método de Evanno *et al.*, (2005) usando el valor de Logaritmo de K (*LK*); c) grafica de cluster para K = 2 y d) para K = 3, donde cada barra pertenece a un individuo y el color representa la probabilidad de pertenecer a un linaje genético, las líneas negras representan la separación entre las localidades.

7.3.4 Análisis de varianza molecular (AMOVA)

Los resultados de AMOVA en ambos casos mostraron que el mayor grado de variación genética es entre los individuos (E1: 77; E2: 78%). A si mismo se observó un mayor grado de diferenciación entre grupos para el escenario 1 (1.42%) en comparación del escenario 2 (0.97%) (Tabla V).

Tabla V. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el set de 691 *loci* neutrales. E1: tres poblaciones (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, PC_YAV, GYM, BK, 3 BSJ). E2: cuatro poblaciones con base en las unidades de manejo (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, 3 PC_YAV, GYM, BK, 4 BSJ).

Agrupamiento	Fuente de Variación	Índice de Fijación	% de Variación	P
E1	Entre Grupos (F_{CT})	0.014	1.42	0.025
	Entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC})	0.006	0.63	0.045
	Entre Individuos al interior de las poblaciones (F_{IS})	0.206	20.26	0.000
	Al interior de los individuos (F_{IT})	0.223	77.68	0.000
E2	Entre Grupos (F_{CT})	0.009	0.97	0.025
	Entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC})	0.006	0.65	0.052
	Entre Individuos al interior de las poblaciones (F_{IS})	0.206	20.35	0.000
	Al interior de los individuos (F_{IT})	0.219	78.02	0.000

Nota: Se muestra la fuente de variación, los índices de fijación (F_{CT} : variación debido a diferencias entre los grupos; F_{SC} : variación debido a diferencias entre poblaciones dentro de los grupos; F_{IS} : variación debido a diferencias entre individuos dentro de las poblaciones y F_{IT} : variación debido a diferencias entre individuos) con su valor de probabilidad ($p > 0.05$) y el porcentaje de variación.

7.4 Análisis de estructura genómico poblacional (*loci outliers*)

En esta sección se abordarán los análisis de estructura poblacional (F_{ST} , DACP, Análisis de Cluster y AMOVA) para el objetivo particular 2 que corresponde a la parte adaptativa (*loci outliers*) que detecto el programa **Bayescan**, los cuales son 6 *loci* en 116 individuos distribuidos en 9 localidades.

7.4.1 Diferenciación genética poblacional (F_{ST})

El análisis pareado de F_{ST} mostro valores de 0.0 (TPO-AGI, TPO-PC_YAV) hasta 0.401 (BSJ_YAV-PSC). En la tabla VI se muestran todas las comparaciones, se observa que la localidad del AGC (BSJ) presentó diferencias significativas con respecto al resto de las localidades ($p \leq 0.001$), así como PSC presentó diferencias con respecto a las localidades más norteñas del GC (BK y BSJ; $p \leq 0.001$ para ambas). La magnitud de los valores de diferenciación fue más elevada en comparación con los neutrales.

Tabla VI. Análisis pareado de F_{ST} para el set de 6 *loci outliers* de camarón azul (*L. stylirostris*), por debajo de la diagonal se muestran los valores de F_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p después de la corrección secuencial de Bonferroni

	PSC	ALT	CC	TPO	AGI	PC_YAV	GYM	BK	BSJ
PSC	*	0.002	0.034	0.013	0.008	0.006	0.024	0.000	0.000
ALT	0.223	*	0.191	0.999	0.999	0.999	0.608	0.208	0.000
CC	0.135	0.075	*	0.469	0.210	0.152	0.559	0.072	0.000
TPO	0.201	0.000	0.049	*	0.999	0.999	0.431	0.166	0.000
AGI	0.188	0.000	0.067	0.000	*	0.999	0.230	0.099	0.000
PC_YAV	0.219	0.000	0.089	0.000	0.000	*	0.090	0.045	0.000
GYM	0.124	-0.006	-0.022	0.032	0.046	0.063	*	0.767	0.000
BK	0.221	0.118	0.099	0.161	0.180	0.204	-0.043	*	0.000
BSJ	0.144	0.373	0.313	0.362	0.370	0.401	0.291	0.337	*

($p \leq 0.001$).

Nota: Los valores significativos (<0.001) se encuentran negritas.

7.4.2 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP)

Mediante el ADCP se obtuvo un solo agrupamiento con una tendencia a separar la localidad del AGC (BSJ) como un grupo independiente del resto de las localidades (Fig. 10). En el análisis se retuvieron 5 PCs con una probabilidad de asignación de cada grupo del 44 %.

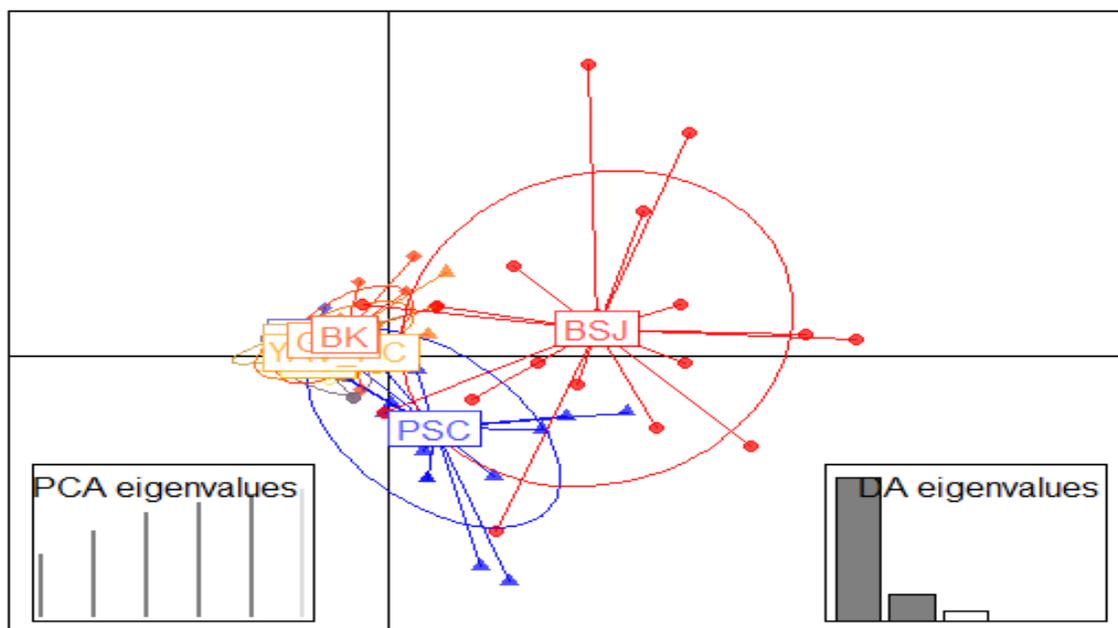


Figura 10. Análisis discriminante de componentes principales para el camarón azul (*L. stylirostris*) con el set de 6 *loci outliers*, reteniendo 5 componentes y dos eigenvalues, con una probabilidad de asignación del 44% para los grupos.

7.4.3 Análisis de clúster

El análisis de Cluster para los 6 *loci outliers* tanto para el método de ΔK como para logaritmo de K indicaron que el valor más probable es $K=2$ (Fig. 11a-b); con fines comparativos se graficó $K=3$ (Fig. 11c). El patrón de probabilidad de pertenencia a cada grupo genético de manera individual mostró que la localidad de BSJ constituye prácticamente un solo grupo, presentando poca mezcla con las demás localidades (Fig. 11b). Para $K=3$ se logra diferenciar BSJ, así como un patrón de mezcla entre grupos diferente para la localidad PSC y una menor mezcla para el resto de las localidades del GC.

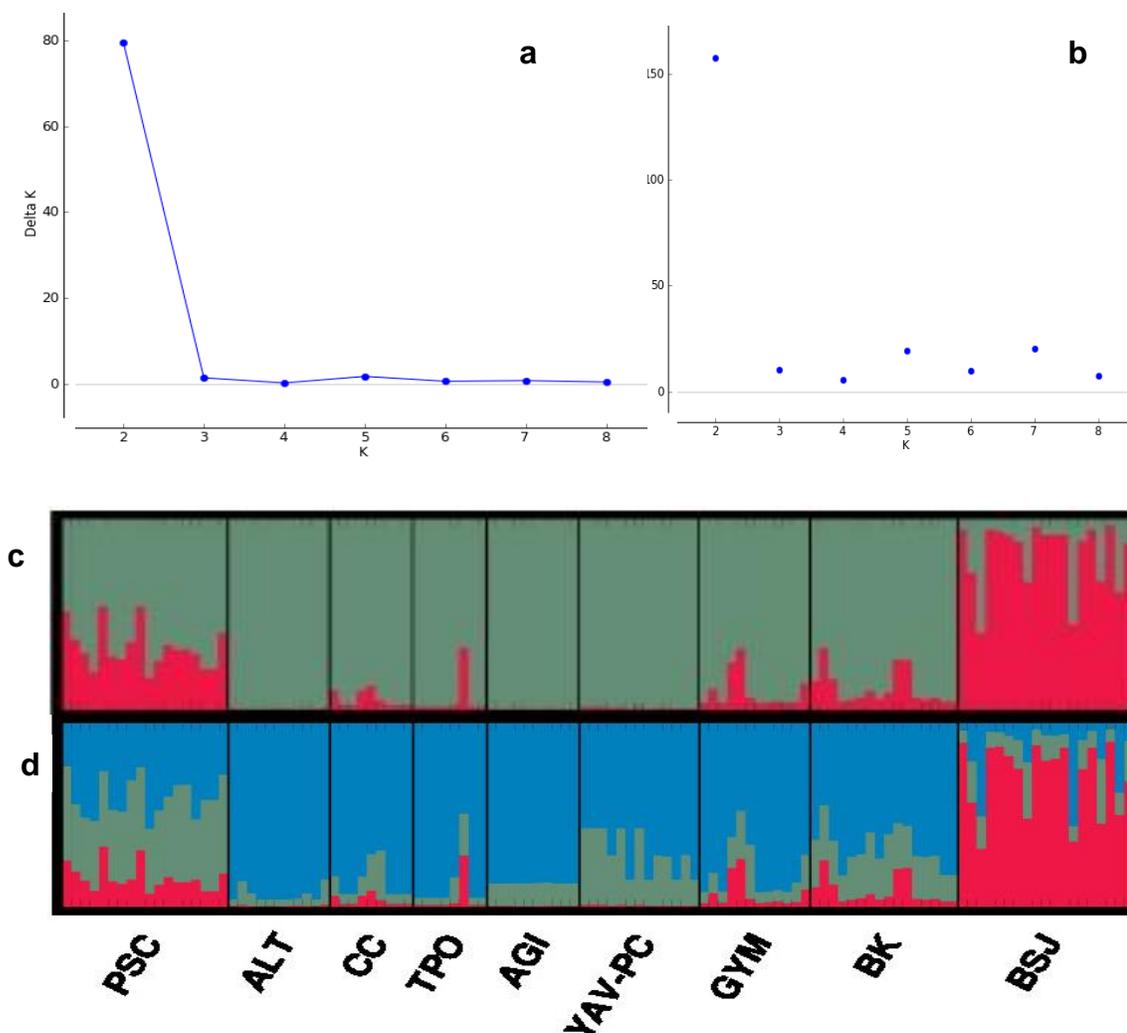


Figura 11. Análisis de cluster del camarón azul (*L. stylirostris*) para el set de marcadores *outliers* de 6 *loci*. a) Numero más probable de Logaritmo de K (*LK*) b) Numero más probable de K utilizando el método de Evanno *et al.* (2005) usando el valor de Delta K, b) grafica de cluster para K = 2 y c) para K = 3, donde cada barra pertenece a un individuo y el color la proporción de pertenecer a uno u otro grupo, las líneas negras representan la separación entre las localidades.

7.4.4 Análisis de varianza molecular (AMOVA)

Los resultados de AMOVA para el set de 6 *loci outliers* (Tabla VII) mostro un mayor porcentaje de variación explicada entre grupos para ambos escenarios,

siendo más alto para el caso del E1 ($V_a = 43.91\%$) en comparación con el E2 (35.17 %) siendo significativo en ambos casos.

Tabla VII. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el set de 6 *loci outliers* para dos escenarios, E1: tres poblaciones (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, PC_YAV, GYM, BK, 3 BSJ). E2: cuatro poblaciones con base en las unidades de manejo (1 PSC, 2 ALT, CC, TPO, AGI, 3 PC_YAV, GYM, BK, 4 BSJ).

Hipótesis	Fuente de Variación	Índice de Fijación	% de Variación	P
E1	Entre Grupos (F_{CT})	0.439	43.91	0.029
	Entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC})	-0.037	-2.10	0.068
	Entre Individuos al interior de las poblaciones (F_{IS})	0.281	16.36	0.003
	Al interior de los individuos (F_{IT})	0.581	41.84	0.000
E2	Entre Grupos (F_{CT})	0.351	35.17	0.003
	Entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC})	-0.036	-2.35	0.052
	Entre Individuos al interior de las poblaciones (F_{IS})	0.281	18.89	0.004
	Al interior de los individuos (F_{IT})	0.517	48.30	0.000

Nota: Se muestra la fuente de variación, los índices de fijación (F_{CT} : variación debido a diferencias entre los grupos; F_{SC} : variación debido a diferencias entre poblaciones dentro de los grupos; F_{IS} : variación debido a diferencias entre individuos dentro de las poblaciones y F_{IT} : variación debido a diferencias entre individuos) con su valor de probabilidad ($p \leq 0.05$) y el porcentaje de variación.

7.5 Aislamiento por Distancia

El modelo de aislamiento por distancia utilizando SNPs neutrales mostró una correlación positiva significativa ($p = 0.003$) con un valor de $R^2 = 0.59$ (Fig. 12, puntos azules); mientras que la relación entre la misma matriz de distancia y distancias genéticas de SNPs outliers fue una correlación positiva no significativa ($p = 0.098$) con un valor de $R^2 = 0.58$ (Fig. 12, puntos naranjas).

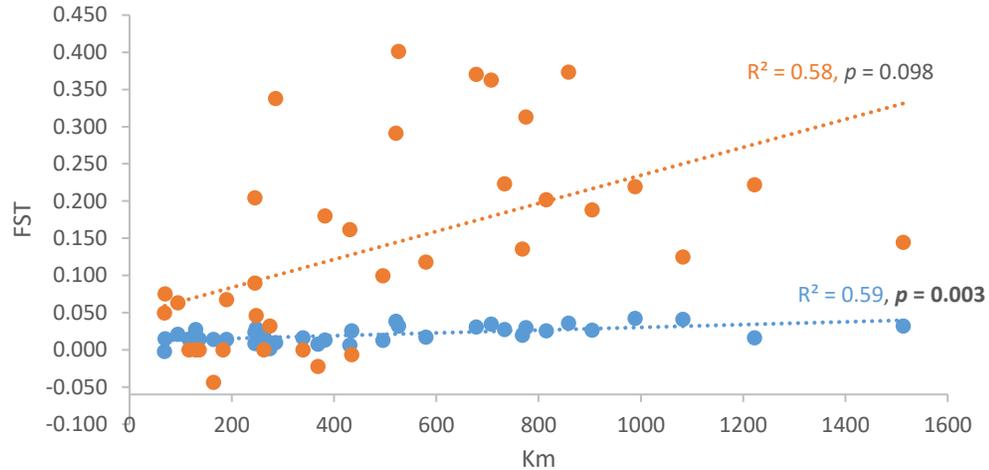


Figura 12. Prueba de aislamiento por distancia para el camarón azul (*L. stylirostris*). En el eje Y se muestran los valores de F_{ST} y en el eje X los valores de distancia geográfica en kilómetros. Puntos en azul diferencias pareadas utilizando *loci* neutrales, mientras que los puntos naranja son las diferencias pareadas con *loci* outlier.

7.6 Relación genoma ambiente

Las variables obtenidas de las imágenes satelitales presentan una alta variabilidad ambiental a lo largo del año y entre las localidades muestreadas. La SST (Fig. 13a) presenta un gradiente latitudinal aumentando de norte a sur, siendo los meses más calientes de julio a septiembre. Los niveles de Chla (Fig. 13b) muestran más diferencias (temporal y latitudinalmente) sin una tendencia clara; sin embargo, el periodo de mayor productividad es febrero-abril.

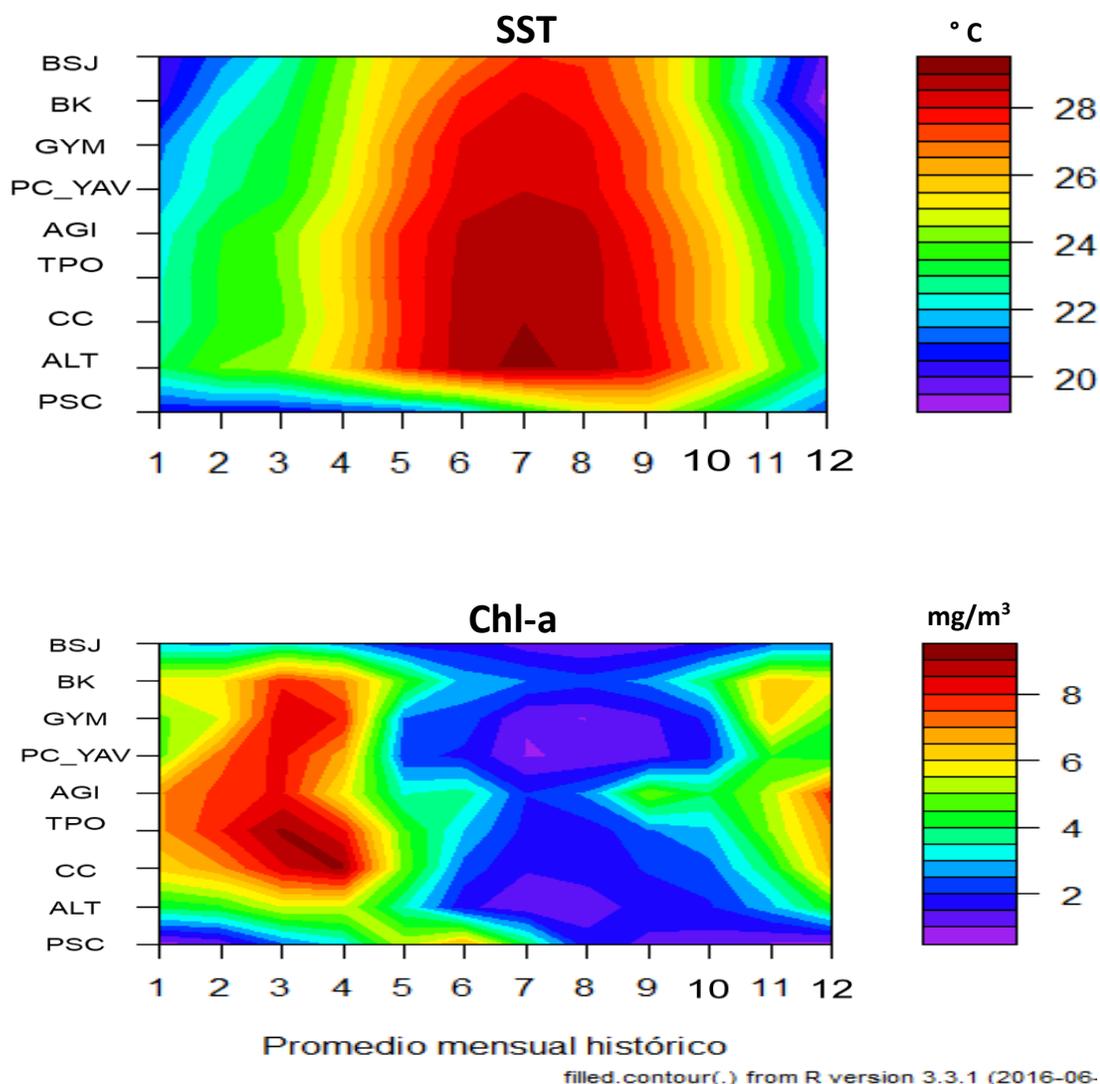


Figura 13. Análisis de variables a partir de imágenes del satélite Aqua MODIS. SST (Temperatura Superficial del Mar), Chl-a (Clorofila-a). En el eje Y se muestran las localidades y en el eje X se muestran los meses de enero (1) a diciembre (12).

A partir de estas variables (SST y Chl-a) se estimaron 4 variables resumen máximo, mínimo, rango y media (Tabla VIII) que se usaron como predictores para la prueba de análisis de Redundancia.

Tabla VIII. Resumen de variables para Análisis de Redundancia de camarón azul (*L. stylirostris*) para las 9 localidades.

Localidad	PSC	ALT	CC	TPO	AGI	YAV_PC	GYM	BK	BSJ
SST_media (°C)	22.14	26.16	25.80	25.84	25.69	25.10	24.86	24.21	23.92
SST_rango (°C)	4.47	6.40	6.87	6.86	7.12	7.45	7.80	8.83	7.73
SST_min (°C)	20.56	22.76	22.13	22.13	21.82	21.04	20.59	19.30	19.78
SST_max (°C)	25.02	29.16	29.00	28.99	28.95	28.48	28.39	28.12	27.51
chla_media (mg/m³)	2.46	3.17	4.66	5.04	5.20	3.73	4.00	4.80	2.11
chla_rango (mg/m³)	5.98	4.42	7.60	7.40	6.11	7.22	7.50	5.71	2.29
chla_min (mg/m³)	0.70	1.13	1.54	1.71	2.01	0.98	1.00	2.18	1.09
chla_max (mg/m³)	6.67	5.55	9.14	9.11	8.12	8.19	8.50	7.90	3.38

Notación: Puerto San Carlos (PSC), Altata (ALT), Cerro Cabezón (CC), Topolobampo (TPO), Agiabampo (AGI), Yavaros-Paredón Colorado (PC_YAV), Guaymas (GYM), 9. Bahía de Kino (BK), 10. Bahía San Jorge (BSJ).

El análisis de Redundancia utilizo como predictores: SST_min (VIF 1.70), SST_max (VIF 2.17), chla_min (VIF 1.76) y chla_max (VIF 1.31) estas variables presentaron los niveles más bajos de correlación; el modelo resulto no significativo ($p= 0.474$) después de las pruebas de permutación para ninguno de los ejes (Fig. 14). El RDA1 (eje x) presento una proporción de la varianza explicada del 83% y el RDA2 (eje y) una proporción del 10%. Las variables se presentan como vectores (líneas azules) donde la longitud es proporcional a su aporte con el modelo. Por ejemplo, Chla_max aporta 0.14 en comparación con SST_min que aporta 0.11 ambos positivos para RDA1. En este sentido podríamos decir que, aunque el modelo no fue significativo se logra observar que las localidades presentan importantes diferencias ambientales y se logran diferenciar 3 grupos, centro-sur del GC que se observa están relacionados con temperaturas más calidas y clorofilas mínimas, PSC así como BSJ con temperaturas más frías y clorofilas más altas, lo que parcialmente concuerda con la diferenciación obtenida en análisis previos de estructura poblacional. Por último, los puntos negros representan las frecuencias alélicas de los 6 *loci outliers* igual en relación con el modelo.

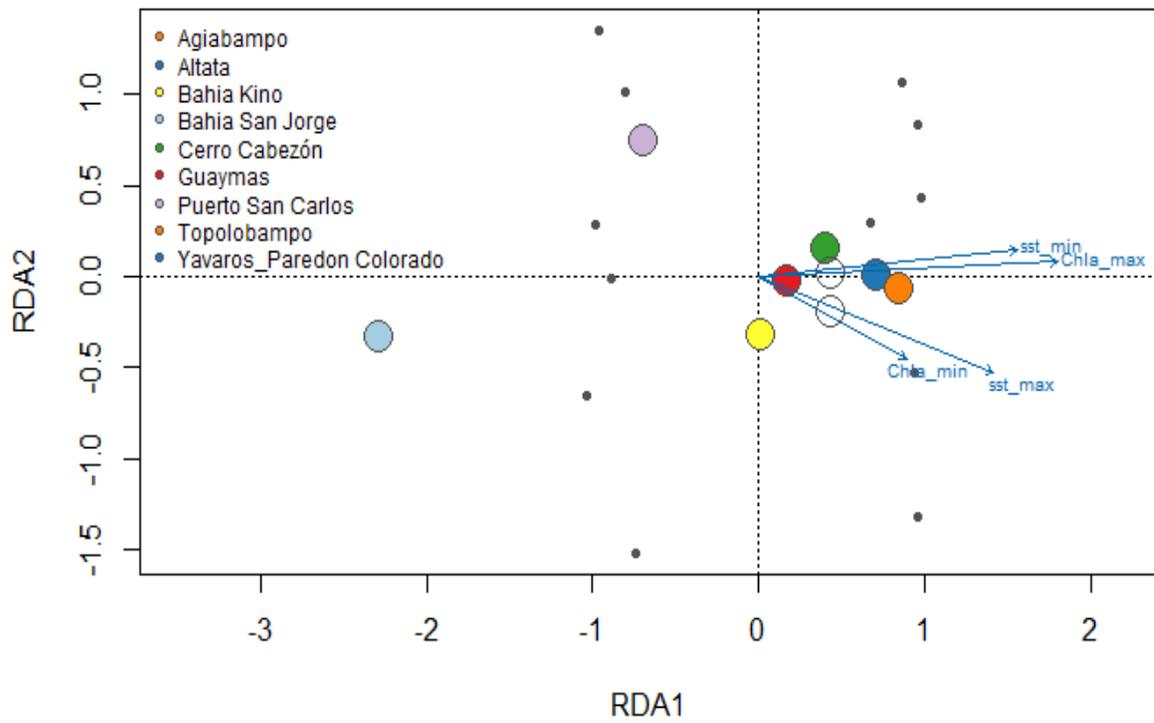


Figura 14. Grafica triplot del Análisis de Redundancia para el camarón azul (*L. stylirostris*), usando las frecuencias de los seis *loci outliers* (puntos negros), los predictores se muestran en azul (flecha es magnitud y sentido) así como las localidades de las muestras en colores.

8. DISCUSIÓN

El presente estudio es el primer trabajo que emplea un enfoque genómico poblacional con SNPs para organismos silvestres de camarón azul (*L. stylirostris*), y peneidos en general, a lo largo del GC y la costa occidental de la península de Baja California Sur. Los marcadores neutrales identificaron dos grupos genéticamente distintos el primero integrado por la región del AGC (BSJ) y un segundo grupo integrado por las regiones CG y BG (ALT, CC, TPO, AGI, PC_YAV, GYM), incluyendo PSC en B.C.S, esta última localidad presenta una mezcla de ambos grupos. Los marcadores *outliers*, presentaron un patrón similar, pero con mayor asignación a los grupos. Estos resultados difieren a lo reportado para la especie con el uso de marcadores convencionales (RAPDs estructura en parches, Aubert y Lightner, 2000; ADNmt panmixia, Mora-Martinez, 2017; Microsatélites estructura en grandes distancias, Valles-Jiménez *et al.*, 2005), sin embargo, los resultados son consistentes con trabajos de modelación de dispersión larvaria reportados para el GC descritos más adelante (Lavin y Marinone, 2003; Marinone, 2012).

Los estudios previos de genética poblacional para esta especie sólo abarcan una región biogeográfica del GC (Aubert y Lightner, 2000), o un área geográfica de muestreo de ~ 500 Km (de la Rosa-Vélez *et al.*, 2000), sumado a esto el bajo número de marcadores utilizado, resulta en un bajo poder estadístico para detectar niveles sutiles de divergencia poblacional y deja un vacío de información que podría revelar datos importantes de la estructura poblacional. A diferencia de lo anterior, en el presente trabajo, no solo es robusto en el tamaño de muestra, sino además en el área geográfica que abarca, con un total de ~ 1,500 km lineales y una separación entre localidades no mayor a ~ 300 Km, siendo el primer estudio en abarcar todo el GC con una representación de las tres bioregiones, así como adoptando el uso de las técnicas de secuenciación masiva (ddRAD-seq).

Aspectos técnicos y robustez de genotipos

Existe una amplia gama de opciones que permiten el análisis de gran cantidad de datos genómicos a partir de *pipelines* (conjunto de procesos o comandos bioinformáticos), por ejemplo, Stacks (Catchen *et al.*, 2013), Pyrad (Eaton, 2014), AftRAD (Sovic *et al.*, 2015), PredRAD (Herrera *et al.*, 2015), ddRADseqTools (Mora-Márquez *et al.*, 2016) o dDocent (Puritz *et al.*, 2014). En el presente trabajo se utilizó el *pipeline* Stacks (Catchen *et al.*, 2013) debido a que es flexible y su simpleza al trabajar e incluye un módulo para la obtención de *loci de novo* en un tiempo relativamente corto, esto posibilita el trabajo con organismos no modelo.

Dentro de **Stacks** y cualquier otro programa de construcción de *loci de novo* se deben considerar diversos factores para asegurar una base de datos robusta como lo son el número de lecturas por muestra y parámetros de construcción del *locus* (Catchen *et al.*, 2013). Para la construcción de *loci* en *denovo_map* (**-m**, **-M** y **-n**), se realizaron diferentes combinaciones con el fin de encontrar el número óptimo de SNPs retenidos debido a que no se deben usar los valores preestablecidos. Las pruebas arrojaron como combinación óptima **-M3 -m5 -n4** con los cuales obtuvimos 755 SNPs. Los parámetros utilizados se consideran estrictos debido a que solo se permiten 3 disimilitudes entre secuencias para formar un stack (M), un mínimo de 5 secuencias para formar un stack (m) y por último un máximo de 4 disimilitudes entre stacks, con dichos parámetros se retiene un menor número de SNPs final. En la mayoría de los estudios de estructura poblacional utilizan valores de **-M2 -m3 -n2** reteniendo SNPs en el orden de miles (Benestan *et al.*, 2015; Catchen *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2015; Miller *et al.*, 2016; Saenz-Agudelo *et al.*, 2015; sólo por mencionar algunos), la detección de un bajo número de *loci* a lo esperado puede ser por el uso de valores mas estrictos en los parámetros (**-M -m -n**) ya que, en nuestro caso es mayor lo que representa un mayor número de lecturas para formar un stacks.

Una vez terminados los filtros de calidad se retuvieron solo aquellas muestras que tuvieron más de 750,000 mil lecturas y menor a 20 millones (135 muestras) con lo que se obtuvo una profundidad promedio de 40X con y un error de genotipificación del 0.4% estimado a partir de las réplicas. Se ha demostrado que la profundidad es un factor importante para la creación de *loci de novo* debido a que se ha observado mayor error de genotipificación por debajo de 25X sugiriendo como mínimo de profundidad 10X (Paris *et al.*, 2017), por ejemplo, Fountain *et al.* (2016) encontraron un error de genotipificación del 11% con profundidades de 5X a 10X, lo que demuestra que nuestro estudio tiene la suficiente robustez para la creación de *loci de novo* y por lo tanto las inferencias llevadas a cabo no cuentan con un sesgo técnico que podría derivarse de errores asociados al llamado de SNPs y obtención de genotipos.

Respecto a la detección de *loci outliers* se espera que sean detectados bajo la premisa de que potencialmente están bajo selección ambiental. Sin embargo, siempre hay que considerar que pueden estar influenciados por errores de tipo I (falsos positivos) debido al modelo estadístico usado para detectarlos o simplemente por procesos demográficos (Bierne *et al.*, 2011). Asimismo, la probabilidad de detección de *outliers* se incrementa en función del número total de marcadores que se obtengan. Generalmente, en los estudios de genómica poblacional se utilizan dos o tres métodos para su detección, considerando *outliers* aquellos que se comparte entre métodos. Bajo esta premisa, en este trabajo se utilizaron dos métodos (5 Arlequin y 6 Bayescan), entre estos métodos se compartieron un total de 3 *loci outliers*, sin embargo, no se encontraron diferencias en los patrones de estructuración entre grupos de loci por lo que se decidió utilizar el mayor número de *loci* (6 Bayescan). A su vez, se sabe que **Arlequin**, a pesar de ser uno de los métodos más utilizados actualmente, tiende a tener mayores falsos positivos debido a errores de tipo I en comparación con **Bayescan** (Narum y Hess, 2011), por lo que en el presente estudio se optó por utilizar sólo 6 *loci outliers* arrojados por Bayescan. En los estudios que incorporan la detección de

marcadores candidatos a selección, la proporción de *outliers* encontrados generalmente ronda entre 0.2 - 4% (0.2 %, Benestan *et al.*, 2016; 0.46 %, Carreras *et al.*, 2017; 0.59 %, Blanco-Bercial y Bucklin, 2016; 1.6 %, Wyngaarden *et al.*, 2016; 3.3 %, do-Prado *et al.*, 2018; 3.55 %, Sandoval-Castillo *et al.*, 2018). En el presente estudio se encontró una proporción del 0.8% el cual comparado con la bibliografía podría considerarse un porcentaje válido para identificar y delimitar grupos con potencial adaptativo.

Estructura genómica neutral y aislamiento por distancia

Se cumplió la hipótesis planteada para los marcadores neutrales (691 SNPs) con la detección de una estructura poblacional previamente no reportada y con un patrón de aislamiento por distancia.

Los bajos niveles de diferenciación poblacional con marcadores neutrales son consistentes con otros trabajos realizados en especies marinas en el área de estudio que cuentan con larvas pelágicas como principal mecanismo de dispersión (camarón azul, Aubert y Lightner, 2000; jaiba, Cisneros-Mata *et al.*, 2019; camarón azul y blanco, de la Rosa-Vélez *et al.*, 2000; cabrilla, Jackson *et al.*, 2015). En general todos los estudios mencionan las corrientes oceanográficas como el mecanismo preponderante en la diferenciación genética de estas especies.

Las corrientes oceanográficas se relacionan con los patrones de estructuración genética en especies marinas con estadios larvarios plantónicos y su capacidad de dispersión depende en gran medida del tiempo de duración de esta fase (Selkoe y Toonen, 2011). Así mismo, los patrones de corriente (anticiclónico en invierno y ciclónico en verano) pueden crear barreras a la dispersión larvaria, por ejemplo, se ha encontrado que larvas de merluza atrapadas en el remolino anticiclónico de invierno al norte del GC lo que crea una barrera de dispersión larvaria (Sánchez-Velasco *et al.*, 2009). Por su parte Calderón-Aguilera *et al.* (2003) encontraron una fuerte asociación entre las corrientes residuales oceanográficas en el AGC mediante modelación y las larvas de camarón azul en

los primeros 28 días de vida lo que genera reclutamiento en esta área. A su vez existe evidencia que sugiere que las poblaciones de AGC están genéticamente segregadas de las del sur del GC, separadas por las grandes islas (Aubert y Lightner, 2000; De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000). Es probable que esta misma barrera este aislando la localidad del AGC en *L. Stylirostris* durante el verano ya que el camarón azul tiene un estadio larvario plantónico que ocurre en medio oceánico con una duración aproximada de 21 días (López-Martínez, 2008).

Marinone (2012), planteó un modelo tridimensional de dispersión de partículas en donde encontró un alto potencial de auto reclutamiento en el AGC, así como una retención de partículas en la costa peninsular asociado a corrientes residuales, contrario a lo que ocurre en la costa continental donde se observa baja retención debido a la exportación de partículas hacia diversas áreas. En el modelo, las partículas se liberaron en cada cuadrante y se recuperaron a los 21 días, las partículas liberadas en el AGC presentaron baja dispersión por debajo de las grandes islas y las partículas de CG y BG presentaron gran mezcla. Dicho modelo puede aplicarse para explicar la estructura obtenida en el presente estudio debido a que en los polígonos del área continental (que comprende nuestro muestreo), se observa una dispersión en las regiones CG y BG debido a los grandes giros ciclónicos y fuertes corrientes costeras durante el verano, así como una retención en el AGC debido a pequeñas corrientes residuales y pequeños giros ciclónicos igual durante la temporada de verano, lo cual coincide con la temporada de desove de *L. Stylirostris*.

La asociación del patrón de corrientes con el patrón de estructura genética en el GC se ha documentado en otras especies de la región. Por ejemplo, en la cabrilla sardinera (*Mycteroperca rosacea*), especie demersal marina con estadio de larva pelágica, mostró diferencias genéticas entre las regiones peninsulares y continentales en la zona de las grandes islas, específicamente por un giro anticiclónico en el AGC que transporta larvas de norte hacia el sur (Munguía-Vega *et al.*, 2014). Una extensión de este previo estudio evaluó la región del AGC y la

región de las grandes islas, encontrando una diferenciación entre la región peninsular y la región continental, asociada a las velocidades de las corrientes oceanográficas durante el verano (Jackson *et al.*, 2015). En un trabajo más reciente con jaiba café (*Callinectes bellicosus*) se evaluó la estructura poblacional a lo largo de las costas de Sinaloa, descubriendo que tiene una estructura metapoblacional y no homogénea como estaba reportado anteriormente, donde el sentido y magnitud de la dispersión larvaria se encuentra asociado al patrón de corrientes oceanográfica (Cisneros-Mata *et al.*, 2019).

Las especies marinas se caracterizan por presentar elevados niveles de flujo genético (Palumbi, 1994) y uno de los patrones comúnmente reportados es el IBD en varios peces e invertebrados (Liggins *et al.*, 2013; Riginos y Liggins, 2013). El aislamiento por distancia establece una relación entre la distancia geográfica y la distancia genética donde las localidades más cercanas presentan una mayor similitud entre sí, y las localidades más alejadas cuentan con una mayor divergencia genética. El poder observar este patrón depende en gran medida de la escala de muestreo y la biología del organismo de estudio (e.g. duración de la larva pelágica) (Liggins *et al.*, 2013; Riginos y Liggins, 2013). Los resultados en este estudio mostraron una relación significativa entre la distancia geográfica y la diferencia genética, es decir, el flujo genético depende en gran medida de la distancia geográfica. Sin embargo, al realizar un análisis sin considerar BSJ, no se encontró una relación significativa, esto implica que una menor escala (ejemplo: BK-ALT-PSC) puede perder la señal de dicho patrón y por lo tanto detectar un extensivo flujo genético en esta región. Por otro lado, esto puede indicar que en BSJ existe una barrera al flujo genético (presencia de las grandes islas). De aquí la relevancia de la escala geográfica en estudios genómico poblacionales para discernir entre los posibles factores que generan relaciones significativas de aislamiento por distancia. Otro ejemplo, algunas especies han mostrado altos niveles de diferenciación genética asociada a las distancia, pero solo a escalas geográficas grandes, esta señal de IBD se pierde cuando reducen la escala

geográfica del análisis (Díaz-Viloria *et al.*, 2009; Drinan *et al.*, 2018; Palumbi *et al.*, 1997). Lo cual coincide con el patrón detectado en el presente estudio.

Estructura genómica adaptativa y asociación genoma-ambiente

La estructura genómica poblacional obtenida a partir de los 6 marcadores candidatos a selección (*outliers*) fue similar a la neutral, pero en mayor magnitud. Los resultados fueron soportados por los análisis de cluster, F_{ST} y AMOVA, en el caso de ADCP no fue concluyente debido a que retiene casi el 100% de los componentes principales con una probabilidad de asignación muy baja. A su vez en el AMOVA se encontró un elevado porcentaje de varianza explicada entre grupos del 44%, por último, no se encontró un patrón de IBD ($r^2 = 0.58$, $p = 0.098$).

Contrario a lo que se esperaba, el patrón de estructuración espacial con SNPs *outliers* fue similar al detectado con los SNPs neutrales. En estudios de estructura poblacional con marcadores *outliers* se espera que el patrón de estructura sea moldeado por la variabilidad ambiental y por ende sea diferente al obtenido a partir de marcadores neutrales como en la langosta (*Homarus americanus*, Benestan *et al.*, 2016), pez espinoso (*Gasterosteus aculeatus*, Guo *et al.*, 2015), merluza (*Merluccius merluccius*, Milano *et al.*, 2014), bacalao (*Gadus morhua*, Bradbury *et al.*, 2010), abulón (*Haliotis laevigata*, Sandoval-Castillo *et al.*, 2018). Sin embargo, en otros estudios los SNPs *outliers* han demostrado patrones similares de estructura genética a los obtenidos con SNPs neutrales, pero con una mayor potencia estadística, por ejemplo, en el mejillón chileno (*Mytilus chilensis*) estudiaron la estructura neutral (851 *loci*) y adaptativa (51 *loci*), mostrando el mismo patrón para ambos sets de marcadores para 4 de sus localidades (Araneda *et al.*, 2016); en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) utilizaron un panel de 67 SNPs neutrales y 14 SNPs *outliers* mostrando los mismos patrones de estructuración (Freamo *et al.*, 2011); en ambos casos se le atribuye el efecto al alto flujo de genes y la baja distancia geográfica. En dichos trabajos a pesar de

tener un gradiente ambiental heterogéneo pareció no tener influencia sobre los *loci outliers* como es el caso del presente estudio.

La explicación más parsimoniosa de los patrones de estructura genómica neutral y adaptativa es debido a la convergencia de efectos derivados de las barreras geográficas y condiciones ambientales (Araneda *et al.*, 2016). En este punto, la región de las grandes islas en el GC funciona como una barrera a la dispersión entre la región AGC y CG, pero también es una zona de transición climática regida principalmente por la temperatura. Al norte de las islas, la variabilidad climática es mayor en comparación con el centro-sur del GC que es más homogénea, lo que puede jugar un papel selectivo en los organismos que habitan dicha región. Si bien nuestros 6 SNPs *outliers* no fueron suficientes para poder detectar un patrón de asociación genoma-ambiente (análisis de redundancia), cabe la posibilidad de una huella de diferenciación genética adaptativa asociada al ambiente en la que todas las localidades del centro-sur están fuertemente influenciadas por las temperaturas más cálidas y la localidad norteña a temperaturas más frías.

Si bien se detectó variación adaptativa diferente entre regiones, no se obtuvo homología de los *loci outliers* con alguna función de uno o varios genes. Esto es común debido a que la mayoría del genoma no codifica para proteínas y las librerías de baja representación se integran principalmente por fragmentos con identidad desconocida. Por otro lado, los *outliers* pueden ser detectados por error de Tipo I o por procesos demográfico (Woodings *et al.*, 2018), por lo que estamos viendo variación neutral en estos patrones antes discutidos.

Futuros estudios se podrían mejorar en la obtención de SNPs con potencial adaptativo al ampliar la cobertura del genoma (un mayor número de SNPs) y área geográfica (costa peninsular del GC) para capturar la mayor diversidad y variabilidad ambiental posible. Esto podría ayudar a predecir una mejor asociación genoma ambiente.

Implicaciones de manejo

Los estudios de genómica poblacional dirigidos a la delimitación de stocks aplicado en pesquerías brindan una herramienta para resolver preguntas en materia de gestión de pesquerías, cuyo principal objetivo es garantizar la máxima producción a través del tiempo, mejorando las leyes regulatorias en beneficio económico y social (Valenzuela-Quiñonez, 2016). El estado actual de muchas pesquerías se encuentran vulnerables, por la falta de datos genéticos de las especies, trayendo consigo consecuencias como, modificación del hábitat y sobreexplotación, afectando así el sustento económico y comercial de millones de personas en el mundo (Baltazar-Soares *et al.*, 2018). Por ello, es importante la identificación y correcta delimitación de los stocks, para así conservar toda la heterogeneidad genética y mantener la productividad del recurso (Valenzuela-Quiñonez, 2016; Ovenden *et al.*, 2015; Hilborn *et al.*, 2003).

En el GC se cuenta con tres áreas administrativas: el AGC, CG y BG, donde se lleva a cabo la evaluación de biomasa del recurso camarón. Estas unidades administrativas no corresponden con las unidades biológicas, por lo tanto, estas unidades deben ser revisadas integrando la nueva información que se generó en el presente estudio. Esto coadyuvará a los evaluadores y tomadores de decisiones a contar con evaluaciones más precisas de la condición del recurso ya que actualmente se reporta un estatus de aprovechamiento al máximo sostenible (CNP, 2017).

El presente estudio muestra nueva información de la delimitación de stocks del camarón azul, un recurso de gran importancia económica y social, la cual no concuerda con las áreas administrativas actuales ni con los resultados reportados en estudios previos de genética poblacional (Aubert y Lightner, 2000; CNP, 2017; de la Rosa-Vélez *et al.*, 2000; Mora-Martinez, 2017). Los resultados deben ser considerados por los evaluadores de stock para contar con estimaciones más precisas de los puntos de referencia de la pesquería y esto a su vez traducirse en medidas de manejo por parte de los tomadores de decisiones del recurso. Este tipo de estudio debería hacerse extensivo a el resto de especies (*F. californiensis*

y *L. vannamei*) que componen el recurso camarón del Pacífico. De esta manera se puede considerar la heterogeneidad espacial de sus poblaciones, proporción por especies en modelos de espacialmente explícitos.

Asimismo, este estudio sirve como base para especies con historias de vida similar y marca una pauta de nuevo conocimiento que debe ser investigado, sumándose así a muchos otros estudios de genómica poblacional enfocados a mejorar las medidas de manejo. Finalmente, se reitera la importancia de dar continuidad a este tipo de estudios en los que se pueda incluir una mayor área de muestreo en diferentes años, con el fin de tener una mejor imagen espacio-temporal de la dinámica poblacional, para así entender los procesos evolutivos que dan forma a la estructura de las poblaciones.

9. CONCLUSIONES

- ❖ El camarón azul (*L. stylirostris*) del Pacífico nororiental presenta una estructura genómico poblacional utilizando marcadores moleculares neutrales rechazando la hipótesis nula de panmixia.
- ❖ El patrón de estructura genómico poblacional neutral indico diferencias entre dos grupos: uno correspondiente a Bahía San Jorge (Alto Golfo de California) y el segundo el resto de las localidades.
- ❖ El camarón azul mostro un modelo de aislamiento por distancia utilizando marcadores neutrales.
- ❖ El patrón de estructura neutral se relaciona con el sistema de corrientes oceanográficas, debido a que es consistente con estudios de modelación de dispersión larvaria y estudios genético-poblacionales en la región.
- ❖ El patrón de variación adaptativa fue similar al mostrado por marcadores neutrales, pero con un mayor grado de divergencia genética.
- ❖ En los análisis utilizados en este estudio no se encontró una asociación-genoma ambiente entre los *loci* candidatos a selección y las variables ambientales seleccionadas.
- ❖ Por último, con base en lo encontrado en el presente estudio se delimitaron dos stocks poblacionales teniendo como frontera geográfica las grandes islas del Golfo de California (Isla Tiburón y Ángel de la Guarda).

10. LITERATURA CITADA

- Adenyo, C., R. Ogden, B. Kayang, M. Onuma, N. Nakajima, M. Inoue-Murayama. 2017. Genome-wide DNA markers to support genetic management for domestication and commercial production in a large rodent, the Ghanaian grasscutter (*Thryonomys swinderianus*). *Anim Genet*, 48:113-115.
- Araneda, C., M. A. Larrain, B. Hecht, H. Narum. 2016. Adaptive genetic variation distinguishes Chilean blue mussels (*Mytilus chilensis*) from different marine environments. *Ecol. Evol.* 6:3632–3644.
- 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.
- Aubert, H., D. Lightner. 2000. Identification of genetic populations of the pacific blue shrimp penaeus *stylirostris* of the gulf of California, Mexico. *Marine Biology*, 137(5–6), 875–885.
- Backhaus, J. O. 1985. A three-dimensional model for the simulation of shelf sea dynamics. *Deutsche Hydrographische Zeitschrift*. 38(4):165-187.
- Baltazar-Soares M., H. H. Hinrichsen, C. Eizaguirre. 2018. Integrating population genomics and biophysical models towards evolutionary-based fisheries management. *Ices. Mer. Sci.* 75(4):1245-1257.
- Beldade R., A.M. Jackson, R. Cudney-Bueno, P.T. Raimondi, G. Bernardi. 2014. Genetic structure among spawning aggregations of the gulf coney *Hyporthodus acanthistius*. *Mar Ecol Prog Ser.* 499:193–201.
- 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.
- Bernardi, G., L. Findley, A. Rocha-Oljevares. 2003. Vicariance and Dispersal

- across Baja California in Disjunct Marine Fish Populations. *Evolution*. 57(7):1599-1609.
- Bierne, N., J. Welch, E. Loire, F. Bonhomme, P. David. 2011. The coupling hypothesis: why genome scans may fail to map local adaptation genes. *Mol. Ecol.* 20:2044–2072.
- Black IV, W. C., C. F. Daer, M. F. Antolin, N. M. DuTeau. 2001. Population Genomics: Genome-Wide Sampling of Insect Populations. *Annu. Rev. Entomol.* 46(1):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.
- Booke H. E. 1981. The conundrum of the stock concept are nature and nurture definable in fishery science?. *Can J Fish Aquat Sci* 38:1479–1480
- 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.
- Bradbury, I. R., Hubert, S., Higgins, B., Bowman, S., Borza, T., Paterson, I. G., P. Bentzen. 2013. Genomic islands of divergence and their consequences for the resolution of spatial structure in an exploited marine fish. *Evol. App.* 6(3):450-461.
- Calderon-Aguilera, L. E., S. G. Marinone, E. A Aragón-Noriega. 2003. Influence of oceanographic processes on the early life stages of the blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in the Upper Gulf of California. *J. Mar. Syst.* 39(1):117–128.
- Capblancq T., L., Despres, D., Rioux, J., Mavares. 2015. Hybridization promotes speciation in *Coenonympha* butterflies. *Mol. Ecol.* 24:6209-6222.
- 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.* 7:43417
- 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., P. A. Hohenlohe, L. Bernatchez, W. C. Funk, K. R. Andrews, F. W. Allendorf. 2017. Unbroken: Redseq remains a powerful tool for understanding the genetics of adaptation in natural populations. *Mol. Ecol. Resour.* 17:362-365p.
- Chabot C.L., M. Espinoza, I. Mascareñas-Osorio, A. Rocha-Olivares. 2015. The effect of biogeographic and phylogeographic barriers on gene flow in the brown smoothhound shark, *Mustelus henlei*, in the northeastern Pacific. *Ecol Evol.* 5:1585–600.
- Cisneros-Mata, M. A., A. Munguia-Vega, D. Rodriguez-Felix, E. A. Aragon-Noriega, J. M. Grijalva-Chon, J. A. Arreola-Lizarraga, L. A. Hurtado. 2019. Genetic diversity and metapopulation structure of the brow swimming crab (*Callinectes bellicosus*) along the coast of Sonora, Mexico: Implications for fisheries management. *Fish. Res.* 212:97-106.
- CONAPESCA. 2014. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura, Ciudad de Mexico.
- da Fonseca, R.R., A. Albrechtsen, G. E. Themudo, J. Ramos-Madrugal, J. A. Sibbesen, L. Maretty, M. L. L. Zepeda-Mendoza, P. F. Campos, R. Heller, R. J. Pereira. 2016. Next-generation biology: sequencing and data analysis approaches for non-model organisms. *Mar. Genomics.* 30:3–13.
- DaCosta, J., M. Sorenson. 2015. DdRAD-seq phylogenetics based on nucleotide, indel, and presence-absence polymorphisms: Analyses of two avian genera with contrasting histories. *Mol. Phylogenet. Evol.* 94:10-27.
- 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.* 27(15):2156-8.
- De la Rosa-Velez J. F.C. Escobar-Fernandez, M. Maqueda-Cornejo. 2000. Genetic structure of two commercial penaeids (*Penaeus californiensis* and *Penaeus stylirostris*) from the Gulf of California, as revealed by allozyme variation. *Fish. Bull.* 98(4):674-683p.
- 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-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.

- DiBattista, J. D., M. J. Travers, G. I. Moore, R. D. Evans, S. J. Newman, M. Feng, S. D. Moyle, R. J. Gorton, T. Saunders, Berry. 2017. Seascape genomics reveals fine-scale patterns of dispersal for a reef fish along the ecologically divergent coast of Northwestern Australia. *Mol. Ecol.* 23(22):6206-6223.
- Do Prado, F. D., M. Vera, M. Hermida, C. Bouza, B. G. Pardo, R. Vilas, A. Blanco, C. Fernández, F. Maroso, G. E. Maes, C. Turan, F. A. M. Volckaert, J. B. Taggart, A. Carr, R. Ogden, E. E. Nielsen, T. A. Consortium, P. Martínez. 2018. Parallel evolution and adaptation to environmental factors in a marine flatfish: Implications for fisheries and aquaculture management of the turbot (*Scophthalmus maximus*). *Evol. Appl.* 11:1322-1341.
- 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.
- Earl D. A., B. M. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour.* 4:359–361.
- Eaton D. A. R. 2014. PyRAD: assembly of de novo RADseq loci for phylogenetic analyses. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 30:1844–1849.
- Escalante F., J. E., Valdez-Holguín, S., Álvarez-Borrego, J. R., Lara-Lara. 2013. Temporal and spatial variation of sea surface temperature, chlorophyll a, and primary productivity in the Gulf of California. *Cienc. Mar.* 39(2): 203–215.
- Evanno, G., S. Regnaut, J. Goudet. 2005. Detecting the number of cluster of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Mol. Ecol.* 14(8):2611-2620.
- 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 p.
- 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.
- Fountain, E. D., J. N. Pauli, B. N. Reid, P. J. Palsboll, M. Z. Peery. 2016. Finding the right coverage: the impact of coverage and sequence quality on single nucleotide polymorphism genotyping error rates. *Mol. Ecol. Resour.* 16(4):966-

978.

- Freemo H., P. O'Reilly, P. R. Berg, S. Lien, E. G. Boulding. 2011. Outlier SNPs show more genetic structure between two Bay of Fundy metapopulations of Atlantic salmon than do neutral SNPs. *Mol Ecol Resour.* 11:254–267.
- 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.* 24:13-19.
- Guo, B., Li, Z. J. Merilä. 2016. Population genomic evidence for adaptive differentiation in the Baltic Sea herring. *Mol. Ecol.* 25:2833-2852.
- Guo Y., G., Yang, Y., Chen, D., L, Z., Guo. 2018. A comparison of different methods for preserving plant molecular materials and the effect of degraded DNA on ddRAD sequencing. *Plant Divers.* 40(3):106-116.
- 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.
- Herrera S., P. H., Reyes-Herrera, T. M., Shank. 2015. Predicting RAD-seq Marker numbers across the eukaryotic tree of life. *GBE.* 7:3207–3225.
- Hilborn, R., T. P., Quinn, D. E., Schindler, D. E., Rogers. 2003. Biocomplexity and fisheries sustainability. *PNAS.* 100(11):6564– 6568.
- Hoare, K. A.R. Beaumont. 2003. *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture.* Blackwell Science. Cap. 3, 47-71 p.
- Hurtado, L.A., M., Frey, P., Gaube, E., Pfeiler, T.A., Markow. 2007. Geographical subdivision, demographic history and gene flow in two sympatric species of intertidal snails, *Nerita scabricosta* and *Nerita funiculata*, from the tropical eastern Pacific. *Mar Biol.* 151:1863–1873.
- Hurtado, L.A., M., Mateos, C.A., Santamaria. 2010. Phylogeography of Supralittoral Rocky Intertidal Ligia Isopods in the Pacific Region from Central California to Central Mexico. *PLoS ONE*, 5(7): e11633.
- INAPESCA. 2012. Carta Nacional Pesquera 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Pesca, Ciudad de Mexico.
- Jackson, A. M., A., Munguia-Vega, R., Beldade, B. E., Erisman, G., Bernardi. 2015

- Incorporating historical and ecological genetic data for leopard grouper (*Mycteroperca rosacea*) into marine reserve design in the Gulf of California. *Conserv. Genet.* 16(4):811-822.
- Jakobsson, M., N.A., Rosenberg. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics.* 23(14):1801–1806.
- Jombart, T., S. Devillard, F. Balloux. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics.* 11:94.
- Kai, W., K., Nomura, A., Fujiwara. 2014. A ddRAD-based genetic map and its integration with the genome assembly of Japanese eel (*Anguilla japonica*) provides insights into genome evolution after the teleost-specific genome duplication. *BMC Genomics.* 15(233):1071-1164
- Lah, L., D. Trense, H. Benke, P. Berggren, Þ. Gunnlaugsson, C. Lockyer, A. Paeliczka, U. Roos, K. S. Siebert, G. Vikingsson, R. Tiedemann. 2016. Spatially Explicit Analysis of Genome-Wide SNPs Detects Subtle Population Structure in a Mobile Marine Mammal, the Harbor Porpoise. *PLoS One.* 11(10):e0162792.
- Lal, M. M., P. C., Southgate, D. R., Jerry, C. Bosserelle, K. R., Zenger. 2016. A parallel population genomic and hydrodynamic approach to fishery management of highly-dispersive marine invertebrates: The case of the Fijian black-lip pearl Oyster *Pinctada Margaritifera*. *PLoS ONE.* 11(8):161-390.
- Lavin, M. F., S. G., Marinone. 2003. An Overview of the Physical Oceanography of the Gulf of California. *NPG.* (3):173-204.
- Lavretsky, P., J. L., Peters, K., Winker, V., Bahn, I., Kulikova, Y., N.Zhuravlev, R. E., Wilson, C. Barger, K. Gurney, K. G.McCracken. 2016. Becoming pure: identifying generational classes of admixed individuals within Lesser and Greaterscaup populations. *Mol. Ecol.* 25:661–674.
- Leaché, A. D., A. S., Chavez, L. N. Jones, J. A. Grummer, A. D. Gottscho, C. W. Linkem. 2015. Phylogenomics of phrynosomatid lizards: conflicting signals from sequence capture versus restriction site associated DNA sequencing. *GBE.* 7(3):706–719.
- Liggins, L., E. A. Treml, C. Riginos. 2013. Taking the Plunge: An Introduction to Undertaking Seascape Genetic Studies and using Biophysical Models. *Geogr. Compass.* 7(3):173-196.

- Limborg, M. T., S. J., Helyar, M., De Bruyn, M. I. Taylor, E.E. Nielsen, R.O. Ogden, D. Bekkevold. 2012. Environmental selection on transcriptome-derived SNPs in a high gene flow marine fish, the Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Mol. Ecol.* 21(15):3686-3703.
- Lluch-Belda D. 2000. Capítulo 7: La pesquería de camarón en altamar en Sonora. 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. 1:49-64.
- Lluch-Cota, S.E., Lluch-Cota, D.B., Lluch-Belda, D., Nevárez-Martínez, M.O., Parés-Sierra, A., Hernández-Vázquez, S. 1999. Variability of sardine catch as related to enrichment, concentration, and retention processes in the central Gulf of California. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Reports* 40: 184–190p.
- Lluch-Cota, S.E., Aragón-Noriega, E.A., Arreguín-Sánchez, F., Auriol-Gamboa, D., Bautista-Romero, J.J., Brusca, R.C., Cervantes-Duarte, R., Cortés-Altamirano, R., Del-Monte-Luna, P., Esquivel-Herrera, A., Fernández, G., Hendrickx, M.E., Belda, D., Lluch-Cota, D.B., López-Martínez, J., Marinone, S.G., Nevárez-Martínez, M.O., Ortega-García, S., Palacios-Castro, E., Parés-Sierra, A., Ponce-Díaz, G., Ramírez-Rodríguez, M.E., Salinas-Zavala, C.A., Schwartzlose, R.A., Sierra-Beltrán, P.A., 2007. The Gulf of California: review of ecosystem status and sustainability challenges. *Prog. Oceanogr.* 73:1–26.
- López-Martínez, J. Hernández-Vázquez, S. Herrera-Valdivia, E. Rodríguez-Romero, J. Chavez. 2008. Influencia ambiental en la pesquería del camarón. p. 115-128. En: *Variabilidad Ambiental y Pesquerías de México*. López-Martínez, J. (Ed.), Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, México 216 p.
- 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.
- Mac Loughlin-Aleman C. 2019. Paisaje marino genómico del gobio *Lythrypnus dalli* (Gilbert 1890) en el Golfo de California. Tesis de Maestría. CIBNOR.
- Marinone, S. G. 2012. Seasonal surface connectivity in the Gulf of California. *Estuar. Coas. Shelf S.* 100:133-141.
- 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. Stagoni, 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.
- Mora-Márquez, F. V. García-Olivares, B.C. Emerson, U. López de Heredia. 2017. ddradseqtools: a software package for in silico simulation and testing of double-digest RADseq experiments. *Mol Ecol Res.* 17(2):230–246.
- Mora-Martinez, J. P. 2017. diversidad genética y estructura poblacional del camarón azul (*litopenaeus stylirostris*) en la costa noroeste de México. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guanajuato.
- 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.* 75(6):2145-2152.
- Munguia-Vega, A., A. Jackson, S. G. Marinone, B. Erisman, M. Moreno-Baez, A. Giron-Nava, T. Pfister, O. Aburto-Oropeza, J. Torre. 2014. Asymmetric connectivity of spawning aggregations of a commercially important marine fish using a multidisciplinary approach. *PeerJ.* 2(511):1-33.
- Munguia-Vega, A., S. G. Marinone, D. A. Paz-Garcia, A. Giron-Nava, T. Plomozo-Lugo, O. Gonzalez-Cuellar, A. H. Weaver, F. J. Garcia-Rodriguez, H. Reyes-Bonilla. 2018a. Anisotropic larval connectivity and metapopulation structure driven by directional oceanic currents in a marine fish targeted by small-scale fisheries. *Mar. Biol.* 165(1):1-17.
- Munguia-Vega, A., Green, A.L., Suarez-Castillo, A.N. 2018b. Ecological guidelines for designing networks of marine reserves in the unique biophysical environment of the Gulf of California. *Rev Fish Biol Fisheries.* 28:749–776.
- Muñiz-Salazar R, S. Talbot, G. Sage, D.H. Ward, A. Cabello-Pasini. 2005. Population genetic structure of annual and perennial populations of *Zostera marina* along the Pacific coast of Baja California and the Gulf of California. *Mol Ecol.* 14: 711–722.
- Narum S. R., J. E. Hess. 2011. Comparison of F_{ST} outlier tests for SNP *loci* under selection. *Mol. Ecol. Resour.* 11:184–194.
- 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.

- Nielsen, E. E., A. Cariani, E. M. Aoidh, G. E. Maes, I. Milano, R. Ogden, D. Bekkevold. FishPop Trace Consortium & Carvalho, GR. 2012. Gene-associated markers provide tools for tackling illegal fishing and false eco-certification. Nat. commun. 3,851.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O. Hara, G. L. Simpson, P. Solymos, M. H. H. Stevens, H. Wagner. 2018. Package vegan version 2. 5-2p.
- Ovenden, J. R., O. Berry, D. J. Welch, R.C. Buckworth, C. M. Dochmont. 2015. Oceans eleven: A critical evaluation of the role of population, evolutionary and molecular genetics in the management of wild fisheries. Fish Fish. 16(1):125-159.
- Palumbi S. R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. Annual Review of Ecology and Systematics. 25:547–572.
- Palumbi S. R., G. Grabowsky, T. Duda, L. Geyer, N. Tachino. 1997. Speciation and population genetic structure in tropical Pacific sea urchins. Evolution 1:1506–1517.
- 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.
- 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.
- Pfeiler E., L.A. Hurtado, L.L. Knowles, J. Torre-Cosio, L. Bourillon-Moreno, J.F. Marquez-Farias, G. Montemayor-Lopez- 2005. Population genetics of the swimming crab *Callinectes bellicosus* (*Brachyura* : *Portunidae*) from the eastern Pacific Ocean. Mar Biol 146(3):559–569
- Pritchard, J. K., M. Stephens, P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics. 155(2):945-959.
- Primmer, C. R. 2009. From conservation genetics to conservation genomics. Ann N Y Acad Sci. 1162:357–368.
- 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>.
- Reiss, H., G. Hoarau, M. Dickey-Collas, W. J. Wolff. 2009. Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish. Fish.* 10(4):361-395.
- Rice WR. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution.* 43:223–225.
- Riginos, C. 2005. Cryptic Vicariance in the Gulf of California Fishes Parallels Vicariant Patterns Found in Baja California Mammals and Reptiles. *Evolution.* 59(12):2678.
- Riginos, C., M. W. Nachman. 2001. Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Mol. Ecol.* 10:1439-1453.
- Riginos, C., B. C. Victor. 2001. Larval spatial distributions and other early life-history characteristics predict genetic differentiation in eastern Pacific blennioid fishes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 268:1931–1936
- Riginos, C., L. Liggins. 2013. Seascape Genetics: Populations, Individuals, and Genes Marooned and Adrift. *Geogr. Compass.* 7(3):197-216
- Roden, G.I., G.W. Groves. 1959. Recent Oceanographic Investigations in the Gulf of California. *J. Mar. Res.* 18:10-35.
- Rodríguez de la Cruz, M.C., 1981. Aspectos Pesqueros del camarón del alta mar en el Pacífico Mexicano. *Ciencia pesquera.* 1(2):1-19.
- Rosenberg, N. A. 2004. DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes.* 4(1):137-138.
- Saarman N.P., K.D. Louie, H. Hamilton. 2010. Genetic differentiation across eastern Pacific oceanographic barriers in the threatened seahorse *Hippocampus ingens*. *Conserv Genet.* 11: 1989–2000.
- Saarman, N. P., G. H., Pogson. 2015. Introgression between invasive and native blue mussels (*genus Mytilus*) in the central California hybrid zone. *Mol. Ecol.* 24, 4723–4738.
- Saavedra-Sotelo N.C., L.E. Calderon-Aguilera, H. Reyes-Bonilla, D.A. Paz-García, R.A. López-Pérez, A. Cupul-Magaña. 2013. Testing the genetic predictions of

- a biogeographical model in a dominant endemic Eastern Pacific coral (*Porites panamensis*) using a genetic seascape approach. *Ecol Evol.* 3:4070–4091.
- 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.
- Sale P.F., I. Hanski, J.P. Kritzer. 2006. The merging of metapopulation theory and marine ecology: establishing the historical context. In: Kritzer JP, Sale PF (eds) *Marine metapopulations*. Elsevier, Amsterdam, 3–28 p.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press,
- Sánchez-Velasco L., M.F. Lavín, M. Peguero-Icaza, C.A. León-Chávez, F. Contreras-Catala, S.G. Marinone, I.V. Gutiérrez-Palacios, V.M. Godínez. 2009. Seasonal changes in larval fish assemblages in a semi-enclosed sea (Gulf of California). *Cont. Shelf Res.* 29(14): 1697-1710.
- 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.* 27(7):1603-1620.
- Selkoe K.A., J.R. Watson, C. White, T.B. Horin, M. Iacchei, 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.
- Selkoe K., C. D'Aloia, E. Crandall, M. Iacchei, L. Liggins, J. Puritz. 2016. A decade of seascape genetics: contributions to basic and applied marine connectivity. *Mar Ecol Prog Ser.* 554: 1–19.
- Selkoe, K. A., R. J., Toonen. 2011. Marine connectivity: A new look at pelagic larval duration and genetic metrics of dispersal. *Mar Ecol Prog Ser.* 436:291-305.
- Sovic M. G., A. C. Fries, H. L. Gibbs. 2015. AftRAD: a pipeline for accurate and efficient de novo assembly of RADseq data. *Mol. Ecol. Resour.* 15:1163–1171.
- Stanley, R. R. E., C. DiBacco, B. Lowen, R. G. Beiko, N. W. Jeffery, M. Van Wyngaarden, P. Bentzen, D. Brickman, L. Benestan, L. Bernatchez, C. Johnson, P. V. R. Snelgrove, Z. Wang, B. F. Wringe & I. R. Bradbury, 2018. A

- climate-associated multispecies cryptic cline in the northwest Atlantic. *Science Advances* 4(3):eaq0929.
- Teske, P. R., J. Sandoval-Castillo, T. R. Golla, A. Emami-Khoyi, M. Tine, S. v. d. Heyden & L. B. Beheregaray, 2019. Thermal selection as a driver of marine ecological speciation. *Proc R Soc Lond.* 286(1896):2018-2023.
- 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 .
- Valenzuela-Quiñonez F. 2016. How fisheries management can benefit from genomics? *Brief Funct Genomics.* 15(5):352-7.
- Valles-Jiménez, R. 2005. Estudios sobre la estructura genética del camarón blanco, (*Litopenaeus vannamei*), del Pacífico Oriental inferidos del análisis de microsatélites y AND mitocondrial. Tesis Doctoral. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
- Wang, I. J., G. S. Bradburd. 2014. Isolation by environment. *Mol. Ecol.* 23(23):5649:5662.
- Weir B. S., C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 38:1,358.
- Woodings L. N., N. P. Murphy, S. R. Doyle, N. E. Hall, A. J. Robinson, G. W. Liggins, B. S. Green, I. R. Cooke, J. J. Bell, J. M. Strugnel. 2018. Outlier SNPs detect weak regional structure against a background of genetic homogeneity in the Eastern Rock Lobster, *Sagmariasus verreauxi*. *Mar. Biol.* 165(12):185.
- Wright S. 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics.* 31:39–59
- Wynngaarden 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.
- Yang, G. Q., Y. Chen, J. Wang, C. Guo, L., Zhao, X., Wang, Y. Guo, L. Li, D., Li, Z., Guo. 2016. Development of a universal and simplified ddRAD library preparation approach for SNP discovery and genotyping in angiosperm plants. *Plant Methods.* 12(1):39.

Zhao, Y., W. Peng, H. Guo. 2018. Population Genomics Reveals Genetic Divergence and Adaptive Differentiation of Chinese Sea Bass (*Lateolabrax maculatus*). *Mar. Biotechnol.* 20:45–59.

11. ANEXO

Distancias geográficas lineales (en kilómetros) para las 9 localidades.

	PSC	ALT	CC	TPO	AGI	YAV-PC	GYM	BK	BSJ
PSC	0								
ALT	733	0							
CC	768	69	0						
TPO	815	136	68	0					
AGI	905	262	190	116	0				
YAV-PC	989	339	245	183	129	0			
GYM	1082	434	368	274	248	94	0		
BK	1222	579	495	430	382	245	164	0	
BSJ	1513	859	775	707	678	526	521	286	0

Notación; Puerto San Carlos (PSC), Altata (ALT), Cerro Cabezón (CC), Topolobampo (TPO), Agiabampo (AGI), Yavaros-Paredón Colorado (PC_YAV), Guaymas (GYM), 9. Bahía de Kino (BK), 10. Bahía San Jorge (BSJ).