



VARIABILIDAD GENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉS, Stegastes rectifraenum, (GILL, 1862; PERCIFORMES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA JOSÉ FRANCISCO MELÉNDEZ CAL Y MAYOR

LA PAZ, B.C.S., JUNIO DEL 2014



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

SIP-14 BIS

 En la Ciudad de
 La Paz, B.C.S.,
 siendo las
 12:00
 horas del día
 23
 del mes de

 Mayo
 del
 2014
 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada

 por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de
 CICIMAR

 para examinar la tesis titulada:
 CICIMAR

ENÉTICA Y CONECTIVIDAD	DE LA JAQUETA DE CORTÉ	S, Ste	gastes i	rectifra	enum,		
MES: POMACENTRIDAE) EN	AMBAS COSTAS DE LA PE	NÍNSU	LA DE I	BAJA CA	ALIFOR	NIA"	
D:		10					
CAL Y MAYOR	JOSÉ FRANCIS	0					
materno	nombre(s)						
	Con registro: A	1	2	0	3	6	2
	ENÉTICA Y CONECTIVIDAD MES: POMACENTRIDAE) EN C: CAL Y MAYOR materno	ENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉ MES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PEI C: CAL Y MAYOR JOSÉ FRANCISC materno nombre(s) Con registro: A	ENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉS, Stej MES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PENÍNSU C CAL Y MAYOR JOSÉ FRANCISCO materno nombre(s) Con registro: A 1	ENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉS, Stegastes i MES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PENÍNSULA DE I C CAL Y MAYOR JOSÉ FRANCISCO materno nombre(s) Con registro: A 1 2	ENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉS, Stegastes rectifra MES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PENÍNSULA DE BAJA CA D: CAL Y MAYOR JOSÉ FRANCISCO materno nombre(s) Con registro: A 1 2 0	ENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉS, Stegastes rectifraenum, MES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFOR CAL Y MAYOR JOSÉ FRANCISCO materno nombre(s) Con registro: A 1 2 0 3	ENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉS, <i>Stegastes rectifraenum,</i> MES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA" CO: CAL Y MAYOR JOSÉ FRANCISCO materno nombre(s) Con registro: A 1 2 0 3 6

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA				
Directores	de Tesis			
DR. FRANCISCOTAVIER GARCIA RODRIGUEZ Director de Tesis	DR. EDUARDO F. BALART PÁEZ 2º. Director de Tesis			
and and	1. Jan			
DR. ERNESTO AARÓN CHÁVEZ ORTIZ	DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO			
Francis I-binan				
DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA DE LEÓN				
PRESIDENTE DE COL	EGIO DE PROFESORES			



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

 En la Ciudad de
 La Paz, B.C.S.,
 el día 26
 del mes
 Mayo
 del año
 2014

 el (la) que suscribe
 BM. JOSÉ FRANCISCO MELÉNDEZ CAL Y MAYOR
 alumno(a) del

 Programa de
 MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
 alumno(a) del

 con número de registro
 A120362
 adscrito al
 CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

 manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
 DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ
 Y
 DR. EDUARDO F. BALART PÁEZ

y cede los derechos del trabajo titulado:

"VARIABILIDAD GENÉTICA Y CONECTIVIDAD DE LA JAQUETA DE CORTÉS, Stegastes rectifraenum, (GILL, 1862; PERCIFORMES: POMACENTRIDAE) EN AMBAS COSTAS DE LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: <u>jose.melendezcalymayor@gmail.com</u> - <u>figarcia@ipn.mx</u> - <u>fi gr@yahoo.com</u> -<u>ebalart04@cibnor.mx</u> - <u>eduardo balart@hotmail.com</u>

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BIÓL. JOSÉ FRANCISCO MELÉNDEZ CAL Y MAYOR

nombre y firma

A mis padres, Oel y Rosalba que siempre me han apoyado en mi proyecto de vida, se los agradezco de todo corazón. A mis hermanos, Claudia y Juan Carlos que indirectamente me ayudan a seguir adelante en éste proyecto. Todos hacen de mí andar en ésta vida lo mejor. Muchas gracias familia.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Instituto Politécnico Nacional – Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado un paso más en el camino de mi preparación profesional. De igual manera, gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, al Programa Integral de Fortalecimiento Institucional y Beca Tesis por las becas otorgadas.

Agradezco a mis directores de tesis Dr. Francisco Javier García Rodríguez y Dr. Eduardo F. Balart Páez por el tiempo y las enseñanzas para incursionarme en éste mundo de la genética poblacional, por haber aceptado la dirección de éste trabajo, el cual es la base para poder seguir con mis planes a futuro.

Agradezco a mi comité revisor Dr. Ernesto Chávez, Dr. José de La Cruz Agüero y Dr. Francisco Javier García de León por la información, comentarios y correcciones dadas para enriquecer mi trabajo de tesis. De igual manera agradezco al Dr. Enrique Hiparco Nava Sánchez.

Mis más sinceros agradecimientos a la Dra. Carolina Galván. Muchas gracias por el tiempo, conocimiento, e información dada. Sin su ayuda mi introducción en éste tema hubiera sido tormentoso, sin embargo, fue una experiencia de la cual he aprendido mucho y la he disfrutado.

Muchas gracias al M.C. Fernando Aranceta Garza "Cremas" por el total apoyo en los muestreos, sin su ayuda y experiencia con la "hawaiana" la colecta de organismos hubiera tenido sus dificultades. De igual manera a los técnicos del CIBNOR Mario Cota Castro, Enrique Calvillo y Jorge Angulo Calvillo por su participación en los muestreos.

Mis más sinceros agradecimientos a mi "banda" futura Dra. Ana Bricia Guzmán Castellanos, Dr. Héctor Villalobos Ortiz y Dr. Eduardo F. Balart Paez que en la distancia en tiempos difíciles me mostraron la luz y una vez aquí en la Paz me brindaron todo su apoyo para hacer posible este trabajo de tesis y a lo largo de éste mismo fueron un gran soporte.

Al Dr. Rubén Valles por el apoyo inicial en el procesamiento de muestras en el Laboratorio de Genética de La Conservación del CIBNOR.

Gracias a los proyectos CONABIO GD001 "Variabilidad genética y probable origen de las poblaciones colonizadoras en el área afectada por el buque tanque Lázaro Cárdenas II, Baja California Sur" y CIBNOR EP0.02 por el apoyo financiero. También a los proyectos SIP-20120704, SIP-20131165 y SIP 20140781.

Al laboratorio de Genética de Poblaciones y Sistemática del CICIMAR en donde se desarrolló este trabajo y también a todos los que en el laboran por todas las enseñanzas trasmitidas. A la Dra. Noemí Bocanegra Castillo del laboratorio de Necton y Ecología de Arrecifes del CIBNOR así como a la M.C. Lucía Campos Dávila de la Colección Ictiológica del CIBNOR por su apoyo en la identificación y procesamiento primario de muestras. A la Dra. Teresa Sicard del CIBNOR por permitirnos el uso de equipo y laboratorio para la realización de una parte de este trabajo.

Por último y una parte muy valiosa. Danke viel mol Sabrina Mühlemann, estos 2 años han sido difíciles, pero has sido un gran soporte durante todo este tiempo, gracias por la inspiración y por ser el motor durante estos años y planes a futuro, I lieb di.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE TABLAS	IV
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
I INTRODUCCIÓN	3
II ANTECEDENTES	9
Características ecológicas generales de Stegastes rectifraenum	9
Patrones de corriente en el Golfo de California y costa occidental de la Península California	a de Baja 13
Procesos evolutivos relacionados con la geología de la Península de Baja California S	<i>ur</i> 16
III JUSTIFICACIÓN	20
IV OBJETIVOS 4.1 Objetivo general 4.2 Objetivos particulares	21 21 21
V HIPÓTESIS	22
 VI MATERIAL Y MÉTODOS. 6.1 Sitios de recolecta 6.2 Trabajo de campo 6.3 Trabajo de laboratorio 6.3.1 Extracción de ADN total 6.3.2 Diseño de iniciadores (primers) 6.3.3 Amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) 6.3.4 Confirmación de amplificaciones 6.4 Arreglo y alineamiento de las secuencias 6.6 Reconocimiento genético de Stegastes rectifraenum 6.7 Análisis poblacional 6.7.2 Estructura poblacional 6.7.3- Demografía histórica 6.8 Patrón filogeográfico 	23 24 24 24 24 25 25 26 27 27 28 28 28 29 29 29 30 31 34
 VII RESULTADOS 7.1 Identificación genética de Stegastes rectifraenum y Stegastes flavilatus 7.2 Análisis de población 7.2.1 Diversidad molecular 7.2.2 Estructura poblacional 7.2.3 Demografía histórica 7.3 Aislamiento por distancia 	

7.4 Red de linajes de la especie Stegastes rectifraenum
VIII DISCUSIÓN
Identificación genética de Stegastes rectifraenum 52
Análisis poblacional de Stegastes rectifraenum
Hipótesis de las causas sobre la estructura poblacional dentro del Golfo de California
Hipótesis sobre la estructura poblacional Golfo de California- Pacifico
IX CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
X BIBLIOGRAFÍA
ANEXO 1: Diferencias nucleotídicas de COI entre las especies del género Stegastes, Stegastes rectifraenum y Stegastes flavilatus
ANEXO 2: Frecuencias haplotípicas de la región control en Stegastes rectifraenum
ANEXO 3: Ilustraciones de las especies del género <i>Stegastes</i> , <i>Stegastes rectifraenum</i> y <i>Stegastes flavilatus</i> . Las fotos fueron obtenidas de la página <u>http://biogeodb.stri.si.edu/sftep/taxon.php</u> y el crédito de ellas es de Gerald Allen. Mapa de la distribución geográfica de <i>Stegastes flavilatus</i> . Mapa

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4. Fenograma inferido después de 10000 réplicas por el método de re-muestreo (Bootstrap) entre las especies Stegastes rectifraenum y Stegastes flavilatus creado con el Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI) del ADN mitocondrial. El árbol fue construido con el método Neighbor-Joining y usando las distancias genéticas de Kimura 2 parámetros. Las secuencias de Stegastes rectifraenum provienen de los sitios Bahía Concepción (BC), Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía Magdalena (BM), y las secuencias de Stegastes flavilatus provienen de Ixtapa-Zihuatanejo (IZ).
 40
- Figura 6. Correlación de las distancias geográficas vs distancias genéticas de Stegastes rectifraenum empleando la región control del ADN mitocondrial. Los puntos fuera del círculo rojo muestran los valores de las correlaciones con el mayor índice de similitud de Slatkin, LF-EdM, LF-ISJ, LF-IES, EdM-ISJ, EdM-IES, ISJ-IES, BC-BLA, BC-BM y BLA-BM. El círculo en rojo muestra los valores de las correlaciones con el menor índice de similitud de Slatkin M= ((1/Φ_{ST})-1)/4, LF-BC, LF-BLA, LF-BM, EdM-BC, EdM-BLA, EdM-BM, ISJ-BC, ISJ-BLA, ISJ-BM, IES-BC, IES-BLA y IES-BM. 49
- Figura 7. Red de haplotípos para el análisis filogeográfico de la especie Stegastes rectifraenum. Negro= Isla San José, Amarillo= Isla Espíritu Santo, Azul= Ensenada de Muertos, Verde= Los Frailes, Lila= Bahía Magdalena, Naranja= Bahía Concepción y Olivo= Bahía de Los Ángeles....51

LISTA DE TABLAS

 Tabla 1. Datos de muestreo para la especie Stegastes rectifraenum.
 25

- Tabla 3. Protocolo del termociclador para la amplificación de la Subunidad I de Citocromo Oxidasa (COI) del ADNmt de las especies Stegastes rectifraenum y S. flavilatus empleando los iniciadores FishF1 y FishR1.

 27
- Tabla 5. Distancias genéticas de Kimura 2 parámetros (Kimura, 1980) y ± error estándar de Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI) del ADN mitocondrial de Stegastes rectifraenum y Stegastes flavilatus. Las secuencias de Bahía Concepción, Bahía de Los Ángeles y Bahía Magdalena, corresponden a la especie S. rectifraenum. Las secuencias de Ixtapa-Zihuatanejo corresponden a la especie S. flavilatus.
 39
- Tabla 6. Medidas de diversidad genética para cada sitio de muestreo en Stegastes rectifraenum usando un fragmento de la región control del ADN mitocondrial. n= Número total de secuencias, H= Número de haplotípos diferentes, S= Número de sitios segregantes o polimórficos, h= Diversidad haplotípica y π= Diversidad nucleotídica. S.D.= Desviación Estándar......41
- **Tabla 7.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Va= Varianza del componente a, Vb= Varianza del componente b. ϕ_{st} = Define el incremento de heterocigosidad haciendo permutaciones de los haplotípos entre poblaciones. * Indica significancia (p<0.05)......42

- **Tabla 10.** Parámetros de demografía histórica obtenidos a partir de un fragmento de la región control de ADN mitocondrial para cada sitio en donde se recolectaron especímenes de la especie *Stegastes rectifraenum*. $\tau(Tau)$ = Tiempo de generaciones en años, θ_0 (Theta)= Diversidad genética al tiempo de inicio de la expansión, θ_1 (Theta)= Diversidad genética al tiempo final de la

- Tabla 12. Resultados de la prueba de Mantel para los análisis de correlación entre las matrices de distancias genéticas y geográficas para *Stegastes rectifraenum* empleando la región control del ADN mitocondrial de los seis sitios dentro del Golfo de California, Bahía de Los Ángeles, Bahía Concepción, Isla San José, Isla Espíritu Santo, Ensenada de Muertos y Los Frailes. La prueba se hizo para los dos tipos de mutación a nivel de secuencia de ADN, transición y transversión. Z= Estadístico Z, r= Estadístico de correlación, R²= Coeficiente de determinación. * Indica significancia (p<0.05).

RESUMEN

La jaqueta de Cortés Stegastes rectifraenum deposita huevos bentónicos con cuidado parental y una larva pelágica con un promedio de 21.5 días de duración antes de asentarse en un arrecife e iniciar una vida bentónica. Es una especie con reducida vagilidad y gran fidelidad al sitio en etapas adultas, lo cual podría propiciar la formación de poblaciones genéticamente distintas a lo largo de su área de distribución. En contraparte, en el Golfo de California los patrones de corrientes podrían homogeneizar la distribución de las larvas y mantener una población con flujo genético continuo. Éste trabajo documenta el estudio de la estructura genética poblacional y conectividad de la Jaqueta de Cortés en el noroeste del Pacífico mexicano. Se revisaron secuencias de la Región Control del ADN mitocondrial de muestras provenientes de Bahía de Los Ángeles (BLA), Bahía Concepción (BC), Isla San José (ISJ), Isla Espíritu Santo (IES), Ensenada de Muertos (EdM) y Los Frailes (LF) en el Golfo de California. En la costa del Pacífico de la península se muestreó en Bahía Magdalena (BM). Los resultados muestran gran diversidad haplotípica con 131 haplotípos diferentes de 137 obtenidos y solo 6 compartidos. La diversidad nucleotídica muestra a los sitios LF y BM con valores más altos (0.019 y 0.017, respectivamente). El Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) indica que el porcentaje de varianza genética entre sitios es relativamente alta (23.9%) y en consecuencia se encontraron diferencias significativas entre localidades (Φ_{ST} = 0.239, p < 0.05). Las comparaciones pareadas (F_{ST}) entre localidades revelan que dentro del Golfo existen dos poblaciones, una en el sur (ISJ, IES, EdM y LF) y otra en el norte (BLA y BC). La similitud genética entre organismos de la población del norte del Golfo con los encontrados en la costa del Pacífico peninsular (Bahía Magdalena) apoya la hipótesis de la presencia del paleocanal interpeninsular del Vizcaíno en el área de San Ignacio. Eventos oceanográficos, la topografía marina y eventos históricos relacionados con procesos de expansión poblacional asociados a períodos de glaciación son factores que permiten explicar la estructura poblacional de esta especie.

Palabras claves: ADNmt, región control, paleocanal interpeninsular, glaciación.

ABSTRACT

The jaqueta de Cortés Stegastes rectifraenum has benthonic eggs with parental care and a pelagic larva of approximately 21.5 days, before settling in a reef environment and begins a benthonic life. This species has a reduced vagility and a huge fidelity to its territory when adults, thus, that might generate that populations along its spatial distribution are genetically different. In counterpart, the current patterns may contribute to homogenize the larvae dispersal and cause a continuous genetic flow between populations. This work documents the study of the genetic population structure and connectivity of the jaqueta de Cortés in the northwest Mexican Pacific. For this study were analyzed sequences for the control region of the mitochondrial DNA from sites positioned in the Gulf of California: Bahía de Los Ángeles (BLA), Bahía Concepción (BC), Isla San José (ISJ), Isla Espíritu Santo (IES), Ensenada de Muertos (EdM) and Los Frailes (LF). In addition, a single site located in the Pacific side of the peninsula coast, Bahía Magdalena (BM). The results show considerable haplotype diversity with 131 out of 137 obtained haplotypes, and just 6 shared. The nucleotide diversity shows LF and BM as the sites with the highest values of it (0.019) and 0.017, respectively). The Analysis of Molecular Variance (AMOVA) illustrates that the genetic variance percentage between sites is relatively high (23.9%), and in consequence, it was found significant differences between sampling sites (Φ_{ST} = 0.239, p < 0.05). The paired comparisons (F_{ST}) between sites indicates that inside the Gulf there are two populations, one on the south (ISJ, IES, EdM and LF) and the other one on the north (BLA and BC). The genetic similarities found between organisms from the north of the Gulf with organisms from the Pacific peninsula coast (Bahía Magdalena) support the hypothesis about the past presence of the transpeninsular channel on the Vizcaíno area, San Ignacio. Oceanographic events, marine topography and historical events related to expansion population processes associated to periods of glaciation are factors which allow explaining the population structure of this species.

Keywords: mtDNA, control region, trans-peninsular channel, glaciation.

I.- INTRODUCCIÓN

La conectividad en el medio marino se define como el intercambio de individuos entre poblaciones geográficamente separadas, en donde dichos individuos después de establecerse en un área sobreviven y son reclutados en una población para después alcanzar la edad adulta y reproducirse, aportando nuevos reclutas y fomentando el flujo genético a la siguiente generación (Hedgecock *et al.*, 2007; Pineda *et al.*, 2007).

Se ha considerado que el grado al cual el flujo genético afecta los procesos evolutivos dentro de una población debe ser definido como conectividad genética (Lowe y Allendorf, 2010). Ésta por sí misma no permite entender la conectividad poblacional ya que también es importante conocer la conectividad demográfica la cual se relaciona con el efecto que tiene el intercambio de individuos entre poblaciones para definir el crecimiento poblacional y su tasa de mortalidad y sobrevivencia, los cuales impactaran en la expansión latitudinal y longitudinal de la población (Lowe y Allendorf, 2010).

Los océanos y zonas costeras conforman el 70% de la superficie de la Tierra con aproximadamente 360 millones de km², de los cuales entre 91,000 y 24,000 km² corresponden al área del Golfo de California (Lluch-Cota *et al.*, 2007). Considerando lo anterior, se pensaría que las poblaciones marinas gozan de un extenso territorio en el cual se desplazan de un lugar a otro debido a las corrientes marinas. Sin embargo, diversos factores interactúan en la conectividad de dichas poblaciones a lo largo y ancho de la columna de agua.

Los factores que propician el desplazamiento o el sedentarismo de individuos entre ambientes marinos son vastos y complejos de descifrar. Para entender mejor el desplazamiento de los organismos es importante considerar las condiciones oceanográficas y la ontogenia de los mismos (Fogarty y Botsford, 2007). Las condiciones oceanográficas podrían describir características físicas, químicas, geológicas y biológicas que generan diferentes condiciones a nivel meso-escala en los océanos, condiciones que crean ambientes particulares que podrían favorecer o

limitar la concentración de vida marina en espacios específicos dependiendo de la fisiología de la especie (Cowen *et al.*, 2000; Sponaugle *et al.*, 2005). Así, la ontogenia de un organismo parece estrechamente relacionada con las condiciones oceanográficas debido a que variables ambientales como la temperatura afectan la fisiología de los peces marinos repercutiendo en la capacidad natatoria de éstos (Leis, 2007), por lo tanto, el estudio ontogénico colaboraría a entender el comportamiento de éstos hacia determinados eventos oceanográficos en su entorno.

Considerando lo anterior resulta importante entonces entender los aspectos que fomentan la movilidad de los individuos a través de la columna de agua ¿Es la disponibilidad de alimento, las condiciones fisicoquímicas favorables, la presencia de depredadores, la mayor disponibilidad de refugio, la menor competencia entre especies, el incremento del éxito reproductivo, la mayor área de anidación o la formación de congregaciones para producir desoves masivos y aumentar las posibilidades de éxito en la fertilización lo que fomenten dicha movilidad (Gaines *et al.*, 2007)?.

La disponibilidad de alimento es un factor que influye en la distribución de las especies. En determinados peces, éste fomenta cambios en la biomasa y densidad en la estructura trófica de un sitio (Williams y Hatcher, 1983; Pratchett *et al.*, 2006). La temperatura, define también de igual manera la distribución de las larvas y contrae o desplaza el área de distribución de los organismos (Booth *et al.*, 2011). Otro factor importante que incide en la distribución larval es la presencia de depredadores, debido a que disminuye la probabilidad de sobrevivencia y en consecuencia, afecta la distribución de las presas durante su asentamiento (Turner y Mittelbach, 1990; Hugie y Dill, 1994).

Algunas otras fuentes relevantes son las siguientes. La disponibilidad de refugio, permite al individuo esconderse de su depredador y al mismo tiempo puede proveer de superficie para la reproducción. La complejidad de la topografía, en especial la rugosidad, es un fuerte indicador de riqueza ictiológica en un área (Gratwicke y Speight, 2005; Walker *et al.*, 2009). Es importante mencionar que en sitos con elevada biodiversidad, en donde la competencia por espacio también es elevada

(especialmente entre especies con hábitos similares), se propicia el éxito de unas especies y la continua subsistencia de su legado genético, mientras que otras con menos éxito competitivo se desplazan a otros sitios para proliferar de forma más activa en la cadena trófica (Sale, 1978). De esta manera, es posible observar diferentes estrategias reproductivas debido a la influencia del medio ambiente; estrategias tales como producción de nidos, desoves masivos, cuidado parental y larvas pelágicas entre otros, que les han permitido a las especies proliferar y transportarse a otros sitios para así asegurar la subsistencia del linaje (Forsgren *et al.*, 2002).

Contrario a algunos factores que fomentan la conectividad de las poblaciones marinas, existen otros que limitan la migración y en consecuencia la conectividad poblacional, como son la duración de la larva pelágica, el sedentarismo en la etapa adulta, la presencia de depredador en los corredores marinos, la capacidad natatoria, y las corrientes y barreras físicas y de otra índole.

El tiempo que la larva pelágica dura en la columna de agua antes de asentarse podría determinar su dispersión. Shanks *et al.* (2003) estiman que las especies que tienen comportamiento bentónico y una duración larval pelágica de menos de 4 días (100h), pueden dispersarse menos de 1 km, mientras que larvas con duración pelágica de más de 12 días (300 h) pueden ser dispersadas más de 20 km.

Finalmente, la dispersión de individuos a lo largo y ancho de la columna de agua no solo existe en el estadio de huevo y larval pelágico, sino también en juveniles y adultos (Roberts, 1997; Cowen *et al.*, 2000; Fisher *et al.*, 2000; Atema *et al.*, 2002; Roberts *et al.*, 2003; Shanks *et al.*, 2003; Sobel y Dahlgren, 2004), aunque, muchas especies de peces son sedentarias cuando son adultos. Especies que realizan desoves marinos en puntos de encuentro y se mueven entre distintos ambientes en determinadas etapas de su ciclo de vida no son totalmente sedentarias cuando son adultas, por lo tanto, la capacidad de dispersión en la columna de agua a través de diferentes sistemas marinos es mayor en la etapa de la larva pelágica (Sale, 2004; Siegel *et al.*, 2008; Jones *et al.*, 2010).

Aunque la presencia de corredores marinos podría ser difícil de determinar en los océanos debido a la complejidad de éstos, es posible suponer que aquellas poblaciones distribuidas en parches presentan corredores que permiten la conectividad. Por lo tanto, los corredores marinos al ser espacios teóricamente reducidos serían potencialmente de alto riesgo, ya que al ser usados por presas y depredadores, éstos últimos podrían tener un mayor éxito al momento de capturar la presa, por lo que el éxito potencial de desplazamiento de la presa entre parches se podría ver reducida (Gilbert *et al.*, 1998; Gilliam y Fraser, 2001).

La duración de la larva pelágica y la capacidad natatoria en la etapa larval y adulta son consideradas factores importantes. Existen autores que definen una correlación positiva entre la duración de la larva pelágica y la distancia de su dispersión, sin embargo, otros investigadores no detectan dicha correlación (Victor y Wellington, 2000).

La capacidad natatoria en etapa larval y adulta permite al individuo mantener el nado y modificar sus patrones de dispersión (Webb, 1994; Fisher *et al.*, 2000), condiciones que definen la distribución de una especie. Sin embargo, tanto las corrientes como las barreras físicas y de otro tipo, son factores que pueden aumentar o delimitar el potencial real de las capacidades natatorias de una especie. El efecto de las corrientes en la distribución larval pueden o no denotar una mayor cantidad de reclutas en determinadas poblaciones, probablemente debido a la capacidad natatoria del organismo o el desfase entre el desove y la presencia de corrientes (Sponaugle *et al.*, 2005). De la misma manera, las corrientes pueden actuar, en ocasiones, como una barrera ya que llegan a generar diferenciaciones genéticas entre poblaciones distanciadas a 300 km, cuando en otros estudios dicha distancia no es un factor de disimilitud genética (Barber *et al.*, 2000), al igual que las barreras físicas tal como el lstmo de Panamá que ha separado linajes perteneciente a distantes familias de peces como Labridae, Pomacentridae y Chaetodontidae (Cowman y Bellwood, 2013).

Los trabajos de conectividad en ambientes marinos de alguna especie en particular permiten inferir cómo otras especies con condiciones morfológicas, comportamiento

y desarrollo ontogénico similar pudieran estar conectadas (Milicich, 1994; Cowen *et al.*, 2000; Fisher *et al.*, 2000; Bay *et al.*, 2006). Así, se podrían identificar patrones de dispersión con la intención de generar estrategias de manejo adecuadas para la conservación de los recursos del mar (Becker *et al.*, 2007), además de entender la posible interacción de las condiciones oceanográficas tales como corrientes, temperatura, tormentas o eventos geológicos, con las cualidades biológicas de la fauna marina. Al descifrar posibles desplazamientos de individuos de la misma especie entre poblaciones separadas geográficamente proporcionaría una idea, si así fuera el caso, de cuales son aquellas poblaciones (sumidero) para así mantener las poblaciones (Armsworth, 2002; Sale, 2004; Sobel y Dahlgren, 2004).

Existen diversas herramientas para el estudio de la conectividad en ambientes marinos tales como modelos biofísicos, hidrodinámicos y de metapoblaciones, además de los marcadores ya sean artificiales con componentes fluorescentes, elementos como oxitetraciclina, isotopos radioactivos como bario, termales, o marcadores naturales, tales como marcadores genéticos (Jones *et al.*, 2007; Thorrold *et al.*, 2002).

El uso de herramientas moleculares aplicado al estudio de la ecología poblacional es de gran ayuda para inferir los factores que causan las diferencias genéticas poblacionales en especies marinas. De esta manera los métodos moleculares son usados para estudiar la estructura genética en poblaciones de peces marinos (Selkoe y Toonen, 2006; Galarza *et al.*, 2009). Frankham *et al.* (2010) mencionan algunas de éstas herramientas moleculares empleadas tales como aloenzimas, RAPDs, secuencias del ADN mitocondrial (ADNmt) y microsatélites, las cuales son de gran ayuda para el estudio del tamaño y estructura de poblaciones, historia demográfica, migración y flujo genético (conectividad), filogeografía, paternidad, tamaño de población efectiva o cuellos de botella.

Los estudios de estructura genética poblacional en diversas especies de organismos marinos empleando marcadores de ADNmt, se han basado comúnmente en secuencias de la región control, debido a que representan un fragmento altamente

variable y permite la comparación de poblaciones. Von Der Heyden *et al.* (2010), empleando la región control, estudiaron la merluza *Merluccius paradoxus* distribuida en la costa del Atlántico africano y encontraron que ésta especie presenta una población homogénea. Ellos explicaron sus resultados con base en la dispersión de organismos generada por la corriente Benguela. Tsukagoshi *et al.* (2011), amplificaron un fragmento de la región control y encontraron diferencias poblacionales en la especie *Cottus pollux* distribuida en los archipiélagos japoneses. Otro estudio basado en la región control fue llevado acabo por Peng *et al.* (2009), quienes estudiaron una población de la especie *Pampus argenteus* y encontrando una significativa diferenciación genética entre los organismos colectados de tres sitios localizados en el Mar de la China.

En el presente estudio se analizaron secuencias de la región control del ADNmt de la especie de la familia Pomacentridae, *Stegastes rectifraenum* provenientes de diferentes localidades del Golfo de California y una localidad de la costa oeste de la Península de Baja California con el fin de estimar la variabilidad y la conectividad genética.

La distribución de *Stegastes flavilatus* se traslapa con la de *S. rectifraenum* y ambas especies mantienen una alta similitud morfológica (Anexo 3). *In situ*, se distinguen por una coloración amarilla que *S. flavilatus* presenta en las aletas cuando son adultos, aunque en algunos sitios dicha coloración puede ser tan tenue que asemeja a *S. rectifraenum*. También, la coloración pierde su intensidad después de que los organismos son colectados. Considerando lo anterior, previo al análisis poblacional, la identificación morfológica basada en las claves de Allen y Robertson (1998) fue soportada genéticamente mediante la revisión de las diferencias intra e interespecíficas encontradas en ambas especies empleando la región control y la Subunidad I Citocromo Oxidasa (COI).

II.- ANTECEDENTES

Características ecológicas generales de Stegastes rectifraenum

La especie *Stegastes rectifraenum* se distribuye geográficamente desde la parte norte de la costa oeste de la Península de Baja California hasta las costas de Acapulco, incluyendo el Golfo de California y el archipiélago de las Revillagigedo (Allen y Robertson, 1998) (Figura 1).



Figura 1. Distribución geográfica de la especie de estudio *Stegastes rectifraenum*. Mapa de distribución tomado de la página de internet <u>www.iucnredlist.org</u>.

No hay estudios sobre *Stegastes rectifraenum* enfocados a determinar el grado de estructuración de su población a nivel genético. La información que se tiene es de trabajos relacionados con aspectos de su comportamiento reproductivo y alimentario, distribución de adultos y sobre distribución y dispersión de larvas.

En un estudio realizado por Petersen y Marchetti (1989) sobre el comportamiento parental de S. rectifraenum en la parte central del Golfo de California, se encontró que los machos presentan canibalismo parental durante el cuidado de los huevos en el nido y que en promedio se comen los huevos más pequeños y en estadios tempranos. Como respuesta a dicho comportamiento se podría hipotetizar el hecho que las hembras preferentemente depositaban los huevos en nidos con huevos recientemente depositados por otras hembras y no en nidos con huevo ya en estadios más avanzados. El incremento de la disponibilidad de alimento en el medio durante el cuidado de los nidos por parte de los machos, disminuye el canibalismo de éstos sobre los huevos tal y como describe Hoelzer (1992). Con base en lo anterior, el canibalismo parental podría estar relacionado con una respuesta adaptativa a la falta de alimento, que se refleja en la falta de energía para el cuidado parental. Aunque Klug (2007), reporta para individuos de la especie Jordanella floridae que machos con una baja disponibilidad de alimento consumieron una proporción más pequeña de huevos que los machos con una alta disponibilidad de alimento. Lo anteriormente mencionado para S. rectifraenum sugiere que los machos son organismos apegados a su territorio y que posiblemente no tienen mucha movilidad. Las hembras también permanecen en una determinada zona durante la búsqueda del nido propicio para depositar los huevos; esto favorecería una mejor sincronía en la maduración de los huevos al depositarlos en nidos donde otra hembra ya lo hizo recientemente evitando así el desfase que llevaría al canibalismo parental sobre éstos. Además, la ventaja que conlleva que varias hembras depositen sus huevos en un solo nido custodiado por un macho es que la diversidad genética de la progenie del macho incrementa, dando una mayor plasticidad evolutiva a la población (González-Valdez et al., 2013).

Con base en datos obtenidos en Los Frailes, Baja California Sur, México, Moreno-Sánchez *et al.* (2011) soportan que *S. rectifraenum* es una especie omnívora, cuyas presas preferentes son copépodos y algas de los géneros *Bryopsis* y *Ectocarpus*. Entre los gasterópodos también resultaron importantes en la dieta los géneros *Cerithium* y *Olivella*. Un resultado importante que estos autores encontraron es que las dietas específicas para hembras y machos no variaron temporalmente,

presumiblemente debido a que las presas están disponibles todo el año en los arrecifes rocosos de los Frailes. Esta situación podría sugerir poca dispersión por parte de los adultos de *S. rectifraenum* para la búsqueda de alimento.

Los trabajos sobre distribución y abundancia en adultos son relativamente escasos. Meekan et al. (2001) aportó datos sobre demografía y estructura de edades de tres sitios ubicados en el sur de la costa Este de la Península de Baja California. Con base en este trabajo, se sabe que esta especie alcanza hasta 19 años de vida y las edades más frecuentes fluctúan entre 1 y 13 años. Según Ayala-Bocos y Reyes-Bonilla (2008), S. rectifraenum podría mantener su rango de distribución a lo largo de la costa peninsular, dentro del Golfo de California, sin verse afectada por el calentamiento global, aunque si incrementaría su abundancia. Aburto-Oropeza y Balart (2001) encuentran en Los Islotes, localizado en la zona noroeste del archipiélago de Espíritu Santo, que S. rectifraenum es la cuarta especie dominante con individuos de tallas grandes en las zonas rocosas, además de tener presencia en zona de coral negro y paredes, en donde los individuos son de menor talla. En Cabo Pulmo (Alvarez-Filip et al., 2006), analizaron la estructura de la comunidad de peces con censos visuales en la temporada fría y templada. Stegastes rectifraenum presentó el tercer lugar en abundancia relativa y porcentaje de ocurrencia, de sesenta y dos especies identificadas en el área de estudio. Similar a anteriores trabajos, se encontraron individuos de ésta especie en un rango de 2.5 a 15 metros de profundidad; sin embargo, su mayor abundancia fue en zonas someras. Villegas-Sánchez y colaboradores (2009) realizaron un estudio visual de la composición, diversidad y abundancia de peces en los arrecifes rocosos en la Isla San José en temporada fría y templada. Encontraron S. rectifraenum en profundidades de uno a siete metros en todos los sitios muestreados que presentan principalmente un mayor porcentaje de cobertura rocosa y en ambas temporadas. La mayor dominancia fue encontrada de uno a tres metros.

A la fecha, gran parte de la información relacionada con la distribución y dispersión larval de *S. rectifraenum* proviene de estudios basados en muestras de zooplancton recolectadas en el Golfo de California.

Aceves-Medina *et al.* (2003), recolectaron muestras de plancton en el Golfo de California y encontraron que larvas de *S. rectifraenum* presentaron una afinidad faunística subtropical y ocurrieron en zonas someras cercanas al lecho marino especialmente en verano.

Sánchez-Velasco *et al.* (2004) mencionan que en Bahía de La Paz las larvas de *S. rectifraenum* son más abundante en aguas someras, menores de 30 metros de profundidad, ubicadas en la zona de la ensenada La Paz, el canal de San Lorenzo y a lo largo de la costa oeste de la bahía; además, que la abundancia está asociada a altas concentraciones de zooplancton y a la más baja temperatura superficial del mar debido a la mezcla de la columna de agua provocada por vientos y corrientes de marea que afectan más a las zonas someras. También, en la parte más al sur de Bahía de La Paz, Aceves-Medina *et al.* (2008) encontraron en muestras de ictioplancton que individuos de *S. rectifraenum* en el mes de agosto son más abundantes cerca de la superficie durante la marea alta.

Sánchez-Velasco *et al.* (2009) encontraron en la parte norte del Golfo de California, que en el mes de agosto cuando se presenta una corriente ciclónica en la zona, hay un 17.9% de ocurrencia de larvas y una densidad media muestreada de 0.01 larvas/10m² para la especie *S. rectifraenum*.

La información que existe sobre dispersión larval fuera del Golfo de California, ha sido reportada para el Pacífico Central, de Punta Farallón, Jalisco, a Cuyutlán, Colima, (Franco-Gordo *et al.*, 2003). Por otro lado, en un estudio realizado en el sistema lagunar Bahía Magdalena-Bahía Almejas, localizado en la Costa Oeste de la Península de Baja California, Avendaño-Ibarra *et al.* (2004) encontraron que *S. rectifraenum* tiene un rango de abundancia y frecuencia de ocurrencia bajos, ocupando casi el último lugar entre las especies encontradas. Ellos también reportan que esta especie solo fue encontrada en las muestras de agosto y octubre en zonas someras. Sin embargo, su valor biológico en el sistema lagunar la sitúa en el lugar 28 de 43 taxa identificados.

Lo mencionado anteriormente sobre la abundancia y presencia de la especie *S. rectifraenum* a lo largo del Golfo de California, permite plantear la pregunta sobre el grado de conectividad entre sitios ya que la capacidad de dispersión no garantiza el establecimiento de una población panmíctica. Con respecto a la duración de la larva pelágica, Victor y Wellington (2000) reportan para *S. rectifraenum* una duración promedio de 21.5 días en el Pacifico Oriental, y que la duración de una larva en el ambiente pelágico no determina el rango de distribución de ésta.

Patrones de corriente en el Golfo de California y costa occidental de la Península de Baja California

El patrón de corrientes es uno de los factores que se consideran de importancia al momento de querer interpretar la conectividad en ambientes marinos y especialmente en un sistema semi-cerrado tal y como se considera el Golfo de California. Así, es necesaria la revisión de los principales eventos oceanográficos que ocurren en el Noroeste de México.

Varios estudios han encontrado que los patrones de corrientes dentro del Golfo de California son, generalmente, ciclónico (verano) y anticiclónico (invierno). Dicho patrón es definido por vientos, cambios de marea, oleajes de varias frecuencias, oscilaciones periódicas como el fenómeno de El Niño (temperatura), etc.; estos tres últimos ocasionados por la interacción del Océano Pacífico con el Golfo de California a través de la boca del Golfo (Beier, 1997; Lavín y Marinone, 2003). Además, Castro et al. (2000) explican que en dicho flujo ciclónico se genera el enfriamiento del agua sub-superficial en la sección media del Golfo de California, enfriamiento que es más fuerte durante invierno y primavera cuando el intercambio de calor entre el Golfo de California y el Océano Pacífico es mayor. No así cuando hay un calentamiento subsuperficial en la parte media de la sección del Golfo de California, evento que define la corriente anticiclónica. Peguero-Icaza et al. (2011) también mencionan que la fase de circulación ciclónica dentro del Golfo de California durante el verano sucede debido a los giros ciclónicos centrales y la corriente costera que avanza hacia el noroeste a lo largo de la plataforma continental. La corriente ciclónica genera una alta retención de partículas después de los 30 días y la dispersión de partículas hacia el sur del Golfo es baja. Por otro lado, en invierno predomina la fase anticiclónica, es decir, la corriente costera avanza hacia al sureste y genera una baja retención de partículas, pero la dispersión de partículas hacia la parte sur del Golfo es alta. Marinone (2012) con base en un modelo numérico tridimensional y calculando la trayectoria de partículas en un año en 12 sitios usando la velocidad Eureliana, define la parte norte del Golfo de California conformada por el Alto Golfo, sección de giros y región de Sonora, como una zona de retención de partículas entre los 9 y 12 meses del año debido a la amplia circulación de giros a lo ancho del Golfo. También, encontró alta retención de partículas al sur del lado de la península, asociada con una débil corriente residual. Sin embargo, hubo baja retención de partículas en el lado continental en la zona central y sur del Golfo. Peguero-Icaza et al. (2008) también realizan un estudio en donde analizan la retención de partículas a lo largo del Golfo de California. Para el canal central, la retención de partículas ocurre durante la corriente anticiclónica en el norte del Golfo de California y en el Canal Ballenas, y para el sur ocurre en el giro de la cuenca de San Pedro Mártir y en la zona somera de la península. En general, la ruta principal para el transporte de partículas es de norte a sur, siguiendo la corriente anticiclónica. Específicamente en peces Marinone et al. (2008), utilizan un modelo tridimensional para el análisis de conectividad en el Golfo de California y encontraron que durante la temporada de desove en verano, la corriente ciclónica permite la conectividad entre poblaciones desde la costa continental a las costas de Baja California. Wilkinson et al. (2009) mencionan que la corriente de California y la subsecuente división de ésta en Cabo Corriente, en la boca del Golfo genera una estructura termohalina caracterizada por frentes, remolinos e intrusiones. Dicha división genera la circulación ciclónica (Sur a Norte) que entra adyacente a la costa continental y sale adyacente a la península (Godínez et al., 2010). Sin embargo, el efecto de la corriente de California antes mencionado, se podría ver reducido durante el invierno debido a que los vientos a lo largo de la costa del Pacifico soplan del norte y eso empuja la corriente de California lejos de la costa, lo que permite el paso de aguas más templadas provenientes del Pacifico sur por la corriente Davidson.

Sánchez-Velasco *et al.* (2009) definen el norte del Golfo de California como estacional debido al cambio hidrodinámico ciclónico y anticiclónico, producido por la intensa mezcla de mareas en la región de archipiélagos y por las surgencias costeras en el lado este del Golfo de California que suceden de otoño a primavera. Beier y Ripa (1999) mencionan que en los patrones de circulación dentro del Golfo de California la topografía del substrato tiene un efecto sobre éstas. Además encontraron que la corriente ciclónica y anticiclónica en el norte ambas suceden en la misma temporada que en el resto del Golfo. También, que los meses de mayo y noviembre son de transición, en donde ambas corrientes se pueden observar.

En un estudio hecho para la parte sur del Golfo de California por Figueroa *et al.* (2003), se concluyó que las dimensiones horizontales y el sentido de la rotación de los giros están disponibles, pero la posición de éstos no está sujeta a las cuencas y acantilados submarinos. También, la magnitud vertical de los giros alcanza de 500 a 1000 metros. Lo anterior podría indicar que la dispersión de larvas en la parte sur del Golfo de California, es de alguna forma estocástica.

Marinone (2003) menciona que en la capa de Ekman el movimiento de la columna de agua se debe a dos periodos de circulación anticiclónica y un periodo de circulación ciclónica al año. Por debajo de la capa de Ekman, el movimiento de las masas de agua se debe a dos periodos de circulación ciclónica. Para la zona norte del Golfo de California las mareas son el evento más importante en la generación de corrientes residuales, aparte de que la marea y viento contrarrestan el efecto del Océano Pacífico y así permite la corriente ciclónica y anticiclónica una vez por año.

En las zonas externas al del Golfo de California se podría pensar que la corriente de California es el mayor evento que define el transporte de los volúmenes de agua en el Pacífico noreste, zona tropical y subtropical. Sin embargo, en un reporte generado para describir el estado del sistema de Corriente de California por Goericke *et al.* (2007) encontraron que en el sistema de Corriente de California no existe un patrón determinado. También Kurczyn *et al.* (2012) definen que hay tres áreas con presencia de giros ciclónicos y anticiclónicos en el Pacífico mexicano: Punta Eugenia, Cabo San Lucas y Cabo Corrientes. Es importante mencionar que las tres

áreas están situadas en zonas con un cambio fuerte en la morfología costera y con eventuales intensificaciones en las corrientes superficiales. De los tres, Punta Eugenia muestra la más alta producción de giros. Por otro lado, los giros de Cabo Corrientes tienen la más alta velocidad de desplazamiento. En general, los giros ciclónicos incrementan su distancia de movimiento y duración de sur a norte. Sin embargo, los giros anticiclónicos de norte a sur, viajan más rápidamente que los ciclónicos.

Procesos evolutivos relacionados con la geología de la Península de Baja California Sur

La formación del Golfo de California dio como resultado la separación de poblaciones de la misma especie, produciendo especies hermanas, unas con distribución en la costa oeste de la península y otras en el Golfo de California (Jacobs *et al.*, 2004).

Bernardi et al. (2003) analizaron el gen Citocromo b del ADNmt para especies distribuidas dentro del Golfo de California y en la costa Oeste de la Península de Baja California. Ellos encontraron que las especie Gillichthys mirabilis, Anisotremus davidsonni y Lythripnus dalli presentaron una población estructurada que permitió identificar dos linajes, uno asociado principalmente al Golfo de California y otro al Pacífico. Estos mismos autores realizaron también un análisis sobre diferenciación genética entre especies distribuidas dentro del Golfo de California y en la costa oeste de la Península de Baja California empleando la región control del ADNmt. Con base en sus resultados, ellos muestran que para las especies Leuresthes tenuis, Girella nigricans, Chaenopsis alepidota, Hypsoblennius jenkinsi V Paralabrax maculatofasciatus, existen divergencias genéticas entre individuos provenientes de ambas zonas; pero para las especies Halichoeres semicinctus, Semicossyphus pulcher, Hermosilla azurea y Sebastes macdonaldi, ellos no encontraron una divergencia significativa. Considerando lo anterior, los factores que propician la estructuración poblacional influyen de manera distintas sobre las especies debido a que cada una tiene características biológicas propias, con las cuales pueden enfrentar a las condiciones ambientales de manera diferente. Por tal motivo, factores como la duración de la larva pelágica, eventos vicariantes, patrones de flujo genético

y características ecológicas, entre otros, pueden tener pesos distintos respecto a una especie particular sobre el grado de su estructuración poblacional.

Jacobs *et al.* (2004) mencionan que 42 especies de peces no mostraron una distribución espacialmente uniforme y presentan poblaciones en aguas templadas del norte del Golfo de California aisladas de las de costa oeste de la Península de Baja California. Sugieren que las especies de *Paralabrax nebulifer y Paralabrax maculofasciatus* divergieron en el plioceno debido a la apertura del Golfo. También indican que los individuos de *P. maculofasciatus* que habitan en el Golfo tienen una mayor diversidad genética que los individuos que habitan en el Pacífico y sugieren por lo tanto, que éstos últimos representan una población más reciente como resultado de la colonización de individuos provenientes del Golfo (Stepien *et al.*, 2001 en Jacobs *et al.*, 2004). De manera similar, la especie *Girella nigricans* tiene una amplia divergencia e integra clados asociados a individuos del Pacífico y del Golfo de California (Terry *et al.*, 2000).

La separación de poblaciones de peces de la misma especie por la barrera física, Península de Baja California, denota el posible efecto en las diferenciaciones genéticas entre éstas. Sin embargo, dicha diferenciación no es claramente observada entre algunas poblaciones presentes en ambas costas de la península probablemente debido a que efectivamente existe un intercambio de individuos como resultado de los procesos de circulación marina y dispersión larval. La no clara detección de diferenciación entre poblaciones de ambas zonas también ha sido asociada a una relativamente mayor relación entre poblaciones como consecuencia de la presencia histórica de vías de comunicación. Considerando esto, se ha tomado en cuenta la hipótesis de que la presencia de paleocanales interpeninsulares en el pasado permitió la comunicación entre individuos del Golfo de California y de la costa del Pacífico Peninsular. Dicha hipótesis se realza con estudios de la flora y fauna terrestre que habitan a lo largo de la península. Riddle et al. (2000) mencionan tres eventos de formación de paleocanales interpeninsulares. Los dos primeros (Istmo de La Paz y Interpeninsular del Norte), pudieron haberse presentado durante el Plioceno, hace unos tres millones de años. El tercer evento, el del Canal Peninsular

Medio, ocurrió durante el pleistoceno medio, hace un millón y medio de años, separando la península en norte y sur a la altura de la región central del Vizcaíno.

El paleocanal interpeninsular del Istmo de La Paz, separó la región de Los Cabos del resto de la península. Las diferencias genéticas entre filo-grupos de varias especies de plantas soportan esta idea. Dyer *et al.* (2010) encontraron en la planta *Euphorbia lomelii* una discontinuidad genética cerca de los posibles paleocanales interpeninsulares del Istmo de La Paz y el Canal Peninsular Medio. La separación de filo-grupos de la especie de ratón *Chaetodipus arenarius* provenientes de la parte sur de la región de Los Cabos de grupos distribuidos en el resto de la península soportan la existencia del canal del Istmo de La Paz (Riddle *et al.*, 2000).

El paleocanal interpeninsular del Norte del Golfo separó la península del continente. Nason *et al.* (2002) estudiaron las poblaciones de cactus *Lophocereus schottii* a lo largo de la península y encontraron diferencias genéticas entre las poblaciones del desierto de Sonora y las poblaciones de la península.

Respecto a los estudios relacionados con el Paleocanal Interpeninsular Medio, Upton y Murphy (1997) emplearon la región Citocromo *b* y ATPase 6 del ADN mitocondrial para la lagartija *Uta*, y encontraron dos clados divididos por el Canal Peninsular Medio. Empleando ADNmt se encontró que existe una divergencia entre las poblaciones de lagartija *Collisaurus draconoides* del norte y del sur de la península divididas por el Canal Peninsular Medio (Lindell *et al.*, 2005).

De igual manera, existen otros trabajos que podría delimitar el Canal Peninsular Central. Dicho canal podría confirmarse con estudios geológicos y paleontológicos que señalan que la zona media peninsular estuvo sumergida (Lindell *et al.*, 2006), tal como lo encontrado por Smith (1984; 1991), el cual reporta la presencia de moluscos marinos provenientes del Mioceno tardío y Plioceno temprano (7.246-3.600 millones de años atrás) denotando la presencia de aguas del Pacífico hasta la región de San Ignacio. También, se ha encontrado sedimentos del lecho marino en Santa Rosalía (Anderson, 1950; Durham y Allison, 1960). Además, otros resultados con especies de serpientes, mamíferos, pájaros y arañas han corroborado la posible existencia del Canal Peninsular Medio a la altura del Vizcaíno (Lindell *et al.*, 2006). Sin embargo, Garrick *et al.* (2013) plantean una hipótesis diferente al definido por varios autores acerca del paleocanal interpeninsular medio, dicha hipótesis propone la presencia de un desierto cálido como un área de refugio.

III.- JUSTIFICACIÓN

El Golfo de California es considerado un sistema semi-cerrado debido a que su intercambio de agua con el Océano Pacífico es únicamente a través de su boca, con aproximadamente 305 km de longitud. Los patrones de corrientes han sido ampliamente estudiados y actualmente se tiene un mejor conocimiento de los esquemas de mezcla en la columna de agua. De esta manera, el Golfo de California provee características particulares para el estudio de la conectividad en poblaciones de peces ya que las condiciones oceanográficas de éste y las características ontogénicas de las especies ictiológicas que ahí habitan podrían ser comparadas y discutidas con un mayor rango de certeza para la comprensión de procesos ecológicos y evolutivos en términos globales. De igual forma, debido a que el mayor evento de corrientes en la costa del Océano Pacífico de la península es la presencia de la corriente de California con dirección de norte a sur a lo largo de la península, lo anterior también genera menos complicación en la generación de hipótesis debido a que dichas condiciones oceanográficas se pensarían predecibles para la distribución homogeneizada de la larva pelágica.

La Jaqueta de Cortés, *Stegastes rectifraenum* (Gill, 1862), es una especie con características importantes para el estudio de la conectividad, tal como huevos bentónicos, larva pelágica, poca vagilidad y territorialidad alta en etapas adultas, además de que la distribución de ésta especie es exclusiva de la parte norte del Pacífico mexicano abarcando desde el noroeste de Baja California Sur, Golfo de California, hasta su distribución más septentrional en Acapulco, Guerrero.

Así, las condiciones de las corrientes del Golfo de California y de la costa del Pacífico a lo largo de la península y las características de la especie *Stegastes rectifraenum*, permiten un terreno propicio para el estudio de los patrones de conectividad entre las poblaciones, debido a que la movilidad de los individuos se enfocaría especialmente en la etapa de larva pelágica y cómo éstas pueden ser afectadas por los sistemas de corrientes de la zona de estudio. Este trabajo permitirá realizar comparaciones con otras especies con similares características ontogénicas y de distribución geográfica.

El estudio de conectividad entre las poblaciones marinas representa un instrumento importante para aportar información para la generación de mejores estrategias de manejo de los recursos marinos. La aportación de datos sobre los grados de diferenciación genética y en consecuencia niveles de conectividad entre localidades permite identificar los límites de influencia de una población sobre otra y en esos términos sustentar la regionalización de zonas de manejo o de conservación.

IV.- OBJETIVOS

4.1.- Objetivo general

Estimar el grado de conectividad genética de *Stegastes rectifraenum* a lo largo de su distribución espacial en las costas de la Península de Baja California, México, mediante análisis de secuencia de la región control del ADN mitocondrial.

4.2.- Objetivos particulares

- Estimar los niveles de diversidad genética (haplotípica y nucelotídica) en distintas localidades del área de distribución de *Stegastes rectifraenum*.
- Determinar el grado de diferenciación genética entre los sitios de recolecta.
- Evaluar los eventos demográficos históricos de la especie Stegastes rectifraenum.
- Evaluar el patrón de flujo genético entre las distintas localidades muestreadas.

V.- HIPÓTESIS

El presente estudio pretende contrastar las dos siguientes hipótesis:

1) *Stegastes rectifraenum* se encuentra conformada por una sola población a lo largo del área de muestreo incluida en el Golfo de California y la costa del Pacífico noroeste de la península.

Lo anterior se sustenta en las siguientes premisas: Existe un elevado dinamismo dentro del Golfo de California ocasionado por los patrones de circulación ciclónica (Sur a Norte) y anticiclónica (Norte a Sur), además del efecto que tiene sobre las corrientes la zona de islas localizada en el alto Golfo. También, se encuentra la corriente de California en la costa Oeste de la península que avanza de norte a sur y se une al Golfo de California. Considerando lo anterior se espera una elevada dispersión larval y en consecuencia una alta similitud genética entre los individuos de *Stegastes rectifraenum*. De esta manera, no se espera que exista un patrón de estructuración poblacional.

2) *Stegastes rectifraenum* se encuentra conformada por más de una población a lo largo del área de muestreo incluida en el Golfo de California y la costa del pacífico noroeste de la Península de Baja California.

El planteamiento anterior se sustenta en la siguientes premisas: los adultos de *Stegastes rectifraenum* poseen una baja vagilidad, alta fidelidad al sitio por su comportamiento territorial, la especie presenta huevos bentónicos en nido con cuidado parental, y el período de vida larval pelágico es relativamente corto. Lo anterior se vería reforzado por eventos oceanográficos locales ocurridos en la boca y el interior del Golfo que podría influir en un flujo limitado de individuos de esta especie entre ambas zonas.

VI.- MATERIAL Y MÉTODOS

6.1.- Sitios de recolecta

Los ejemplares de *Stegastes rectifraenum* fueron recolectados entre diciembre del 2003 y junio del 2013 en seis sitios ubicados a lo largo de la costa este del Golfo de California y uno en la costa oeste de la Península de Baja California (Figura 2). Los sitios de muestreo elegidos dentro del Golfo de California fueron: Bahía de Los Ángeles (La Gringa; BLA), Bahía Concepción (El Requesón; BC), Isla San José (ISJ), Isla Espíritu Santo (IES), Ensenada de Muertos (EdM) y Los Frailes (LF). En la costa Oeste de la Península de Baja California el sitio de recolecta seleccionado fue en Bahía Magdalena (BM).



Figura 2. Localización de los sitios de muestreo. Las leyendas en el mapa describen el sitio de muestreo y el número de secuencias incluidas en el análisis poblacional de *Stegastes rectifraenum*. BLA= Bahía de Los Ángeles, BC= Bahía Concepción, ISJ= Isla San José, IES= Isla Espíritu Santo, EdM= Ensenada de Muertos, LF= Los Frailes y BM= Bahía Magdalena.

6.2.- Trabajo de campo

La recolecta se realizó empleando equipo de buceo y un arpón tipo "hawaiano". En Bahía de Los Ángeles se obtuvieron 26 organismos, en Bahía Concepción 34, en Isla San José 14, en Isla Espíritu Santo 9, en Ensenada de Muertos 13, en Los Frailes 17 y en Bahía Magdalena 31. Debido a que la distribución geográfica de Stegastes flavilatus (Gill, 1862) coincide en su mayoría con la distribución geográfica de Stegastes rectifraenum (Allen y Robertson, 1998) y ambas especies podrían ser confundidas durante el muestreo, se usaron individuos de S. flavilatus procedentes (17°40'22.0"N,-101°39'29.2"W) Ixtapa-Zihuatanejo de para obtener su caracterización genética y asegurar no incluirla por error en los análisis de S. rectifraenum. De ésta manera, se soportó la identificación morfológica basadas en las claves de identificación especializada. En la Tabla 1 se presentan los datos del muestreo, precisando la localidad y fecha de cada recolecta para Stegastes rectifraenum.

Todos los organismos fueron transportados en recipientes con hielo. En el laboratorio, las muestras fueron congeladas y mantenidas en ese estado hasta su posterior identificación considerando las claves de identificación de Allen y Robertson (1998). También se tomaron datos de la longitud total y se obtuvo un fragmento de tejido muscular de cada espécimen. Todos los tejidos fueron fijados en etanol al 96%. Por su parte, los organismos también fueron fijados en etanol al 96% y depositados en la colección del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) en La Paz, Baja California Sur, México.

6.3.- Trabajo de laboratorio

6.3.1.- Extracción de ADN total

El tejido muscular conservado en etanol al 96% fue usado para la extracción del ADN total, la cual se realizó empleando el Kit Qiagen DNeasy Blood & Tissue siguiendo el procedimiento incluido en el manual del producto. El ADN extraído de cada individuo fue colocado en tubos Eppendorf® de 0.6 ml y mantenida en congelamiento.

Tusia il Balos de materios para la copecio clogacios fotimatinam.						
Localidad	Coordenadas	Número de organismos recolectados	Fecha de recolecta			
Bahía de Los Ángeles	29°01'59.2"N, 113°32'03 <i>4"</i> W	26	8 de junio del 2013			
(BLA) Bahía Concepción (BC)	26°38'29.9"N, 111°50'02.9"W	34	9 de junio del 2013			
Isla San José (ISJ)	24°52'48.3"N, 110°31'28.7"W	14	9 de enero del 2004			
Isla Espíritu Santo (IES)	24°23'24.0"N, 110°18'54.8"W	9	25 de agosto del 2004			
Ensenada de Muertos (EdM)	23°58'45.0"N, 109°50'02.4"W	13	8 de diciembre del 2003			
Los Frailes (LF)	23°21'32.5"N, 109°25'07.3"W	17	10 de diciembre del 2003			
Bahía Magdalena (BM)	24°35'22.5"N, 112°03'04.1"W	31	8 de diciembre del 2012			

Tabla 1. Datos de muestreo para la especie Stegastes rectifraenum.

6.3.2.- Diseño de iniciadores (primers)

El presente estudio se basó en la región control del ADNmt debido a que es altamente variable en poblaciones naturales por su elevada tasa de mutación lo cual permite encontrar señales de la historia de una población durante cortos periodos de tiempo (Galtier et al., 2009). Las secuencias de este fragmento fueron obtenidas empleando iniciadores específicos diseñados con el fin de incrementar el éxito de las amplificaciones. El primer paso que se llevó a cabo fue diseñar un par de iniciadores a partir de sitios nucleotídicos relativamente conservados. Para tal fin, se emplearon como base secuencias de especies del orden Perciformes (Pagrus major, Antigonia capros. Centropomus armatus, Caranx melampygus, Katsuwonus pelamis, Scomberomorus cavalla, Thunnus thynnus, Acanthurus japonicus, Neolamprologus brichardi, Abudefduf vaigiensis, Lutjanus russellii y Chaetodon auripes) obtenidas de la página electrónica del National Center for Biotechnology Information (NCBI) a través de la base de datos Genbank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Los iniciadores diseñados empleando esta estrategia (Pro2-F, 5´-TCCCAAAGCTAGGATTCTAA-3' y PCR-R, 5'-AACATCTTCAGTGTTATGCTTT-3') permitieron obtener un fragmento de aproximadamente 750 pares de bases (pb), el cual se empleó posteriormente para diseñar un nuevo par de iniciadores internos y específicos (SrecRC F, 5'-GGGTACTCAGGGACATAAATGG-3' y SrecRC R, 5'-GGGGGTTTTCAGGAGTGTTA-3').
Los dos pares de iniciadores fueron diseñados empleando el programa Primer3 (v. 0.4.0, http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/), el cual incorpora modelos termodinámicos que permiten predecir la estabilidad de las estructuras secundarias y la temperatura de alineamiento de los iniciadores, reduciendo la probabilidad de que se obtengan amplificaciones en regiones no deseadas y la formación de dímeros (Koressaar y Remm, 2007; Untergasser *et al.*, 2012).

6.3.3.- Amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Todas las reacciones para la amplificación fueron preparadas en un volumen total de 35μ l. Cada reacción fue realizada empleando 1X de buffer *Taq* (-MgCl₂), 0.2 mM de dNTPs, 0.48 μ M de cada iniciador (SrecRC_F y SrecRC_R), 4.0 mM de MgCl₂, 0.05 U/ μ l de *Taq*, 0.7 μ l de muestra y el resto de H₂O mili Q. El protocolo del termociclador se describe en la Tabla 2.

Paso	T ℃	Tiempo	No. de ciclos
Desnaturalización inicial	94	2 minutos	1
Desnaturalización	94	30 segundos	
Alineamiento	60	45 segundos	30
Extensión	72	1 minuto	
Extensión final	72	3 minutos	1
Conservación	4	4 minutos	Final

Tabla 2. Protocolo del termociclador para la amplificación de la región control en *Stegastes rectifraenum* empleando los iniciadores Srec_F y Srec_R.

La amplificación de la región control de *S. flavilatus* se realizó también empleando los iniciadores SrecRC_F y SrecRC_R. Para determinar la temperatura de alineamiento óptima, se realizó una PCR de gradiente probando cuatro temperaturas (60.0°C,

58.3°C, 53.9°C, 50.8°C y 50.0°C), de las cuales la temperatura de 50.8°C fue la más adecuada. El protocolo final del termociclador incluyó 35 ciclos y un alineamiento a 50.8°C. Las demás condiciones fueron similares a las de *S. rectifraenum* (Tabla 2).

La caracterización genética para ambas especies fue también soportada por la revisión de la Subunidad I del Citocromo Oxidasa (COI) del ADNmt. Para la amplificación de esta región se emplearon los iniciadores FishF1 y FishR1 portados por Ward *et al.* (2005), una reacción similar a la que se lleva a cabo para la región control y el protocolo del termociclador mostrado en la Tabla 3.

Tabla 3. Protocolo del termociclador para la amplificación de la Subunidad I de Citocromo Oxidasa (COI) del ADNmt de las especies *Stegastes rectifraenum* y *S. flavilatus* empleando los iniciadores FishF1 y FishR1.

Paso	T °C	Tiempo	No. de ciclos
Desnaturalización inicial	94	2 minutos	1
Desnaturalización	94	30 segundos	
Alineamiento	54	30 segundos	34
Extensión	72	1 minuto	
Extensión final	72	10 minutos	1
Conservación	4	4 minutos	Final

6.3.4.- Confirmación de amplificaciones

El éxito de todas las amplificaciones fue evaluado mediante electroforesis empleando geles de agarosa al 1%. En cada pozo del gel se incluyeron 5µl de muestra y 2µl de azul de bromo fenol. También, en un solo pozo se agregaron 2µl de un marcador molecular comercial integrado por fragmentos de ADN de tamaños conocidos con el fin de estimar el tamaño del fragmento amplificado. La electroforesis fue corrida a 100 v por aproximadamente 30 minutos y una vez completada, los geles fueron colocados en un transiluminador con luz UV para observar los productos de las amplificaciones. Todas aquellas amplificaciones consideradas exitosas fueron

enviadas a secuenciar (Macrogen, Inc., Corea). Cada fragmento amplificado fue secuenciado en ambos sentidos con los mismos iniciadores empleados durante su amplificación.

6.4.- Arreglo y alineamiento de las secuencias

El arreglo de las secuencias para cada individuo se realizó a ojo con la asistencia de los programas SEQUENCHER[™] 5.1 y ChromasPro Version 1.7.5 empleando cada par de secuencias. Una vez generada la secuencia final de cada individuo, se comprobó que el producto secuenciado correspondiera a cada una de las dos regiones del ADNmt (Región control y COI) mediante una búsqueda de secuencias empleando el programa en línea BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Posteriormente, todas la secuencias finales fueron alineadas usando el algoritmo de ClustalW (Thompson et al., 1994) incluido en el programa MEGA 5.2.1 (Tamura et al., 2011). De manera general, este procedimiento empieza creando una matriz de distancias entre secuencias basadas en un alineamiento pareado que consiste en la identificación de regiones similares que podrían indicar relevancia evolutiva, funcional, etc. Enseguida, el algoritmo usa el método de Neighbor-Joining para crear un alineamiento global de todas las secuencias involucradas (Thompson et al., 1994). Con el total de las secuencias alineadas se revisó nuevamente a simple vista si las variaciones encontradas podrían ser diferencias causadas por error durante la edición o ser asociadas a un evento natural de mutación. Una vez completada esta revisión, se generaron los archivos en los formatos requeridos para los futuros análisis mencionados a continuación.

6.6.- Reconocimiento genético de Stegastes rectifraenum

La caracterización molecular de *Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus* fue basada en la región control y el COI. Para la región control se analizaron cuatro individuos de *S. flavilatus* (todos provenientes de Iztapa-Zihuatanejo, Guerrero) y doce individuos de *S. rectifraenum* (cuatro de Bahía de Los Ángeles, cuatro de Bahía Concepción y cuatro de Bahía Magdalena). Para el COI se analizaron dos individuos

de *S. flavilatus* y nueve individuos de *S. rectifraenum* (tres de Bahía de Los Ángeles, tres de Bahía Concepción y dos de Bahía Magdalena).

Se estimó la distancia genética neta entre las dos especies. Para fines comparativos y considerando lo publicado en la literatura relacionada con la identificación molecular de especies, la estimación de la distancia genética se basó en el modelo de sustitución de Kimura 2-parámetros (Kimura, 1980). El modelo Kimura 2P toma en consideración la tasa de sustitución de las mutaciones a nivel de secuencias de ADN, transición y transversión, asumiendo que los cuatro nucleótidos, adenina, guanina, citosina y timina, tienen la misma frecuencia y no varía entre sitios la tasa de sustitución (Kimura, 1980). Empleando también este modelo se generó un árbol de relaciones fenéticas mediante el procedimiento de *Neighbor-Joining* que consiste en la búsqueda del árbol con las ramas más cortas (Saitou y Nei, 1987). La robustez del árbol fue basado en 10,000 réplicas (Felsenstein, 1985). Estos análisis fueron realizados empleando el programa MEGA 5.2.1 (Tamura *et al.*, 2011).

6.7.- Análisis poblacional

Una vez caracterizada genéticamente la identidad de *Stegastes rectifraenum*, se procedió a realizar el análisis de población descrito a continuación.

6.7.1.- Diversidad genética

El análisis de la diversidad se basó principalmente en la estimación de la diversidad haplotípica y la diversidad nucleotídica (Nei, 1987). La diversidad haplotípica (H) se define como la probabilidad de encontrar dos haplotipos diferentes en la muestra, tomando en cuenta el número total de secuencias (n), número de haplotipos (k) y la frecuencia relativa de cada haplotipo en la muestra (P_i) (Fórmula 1).

$$H = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^{k} p i^2 \right)$$
 1

La diversidad nucleótidica (π) representa una medida análoga a la diversidad haplotípica pero a nivel de nucleótidos. Es definida cómo la probabilidad de encontrar

dos sitios nucleotídicos diferentes entre secuencias de la misma población; es decir, mide el grado de polimorfismo presente en el total de secuencias en la muestra (*n*), considerando la frecuencia de los haplotipos ($p_i \ y \ p_j$) y el número de nucleótidos diferentes por sitio entre las secuencias comparadas (π_{ij}) (Fórmula 2).

$$\pi = \sum_{ij}^{n} p_i p_j \pi_{ij} \qquad 2$$

Adicionalmente, se contabilizó el número total de haplotipos para cada localidad. Estas estimaciones fueron realizadas en el programa Arlequín 3.5.1.2 (Excoffier *et al.*, 2005).

Para evaluar la dependencia de las medidas de diversidad (nucleotídica, haploítica y número de sitios polimórficos) y el tamaño de muestra, se llevó a cabo una correlación simple de Pearson (Pearson, 1895).

6.7.2.- Estructura poblacional

Para la revisión de la estructura de la población se llevó a cabo un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés). El AMOVA, produce estimaciones de las varianzas de las frecuencias de los haplotipos y emplea los estadísticos *Fst*, los cuales muestran la correlación de haplotipos entre y dentro de todos los sitios de muestreo y agrupaciones de éstos. La significancia de las varianzas y los valores de *Fst* son contrastados con aquellos producidos por permutaciones eliminando el supuesto de normalidad y por lo tanto homogeneidad de varianzas, debido a que los datos moleculares son generados por distancia Euclidiana (Excoffier *et al.*, 1992). En el presente trabajo, el AMOVA se basó en el estadísticos ϕ_{st} (Excoffier *et al.*, 1992), el cual considera las diferencias nucleotídicas (distancias genéticas) entre las secuencias, más que en una matriz basada en códigos binarios de unos y ceros producidos a partir del registro de la presencia o ausencia de haplotipos. Empleando el mismo estadístico, también se realizaron comparaciones pareadas entre los sitios de colecta para estimar las diferencias entre

cada par de localidades y detectar, de ser el caso, cuál de ellos explicaba las diferencias poblacionales. En ambos casos, la significancia de la prueba se basó en la probabilidad de encontrar el valor calculado del estadístico en una distribución de probabilidades generada a partir de 10,000 permutaciones. Para reducir la probabilidad de no aceptar incorrectamente la hipótesis nula y al mismo tiempo mantener el poder de la prueba para detectar componentes falsos de la hipótesis nula, se calculó la corrección de Bonferroni, α/k , en donde α es el nivel de significancia de la prueba y k el número total de combinaciones (Rice, 1989), para detectar comparaciones pareadas significativas de los valores de ϕ_{st} .

Las distancias genéticas empleadas para alimentar la matriz fueron estimadas empleando el mejor modelo de sustitución incluido en el programa Arlequín 3.5.1.2 (Excoffier *et al.*, 2005). Este modelo fue aquel que más se aproximó al óptimo encontrado en el programa jModelTest 2.1.3 (Darriba *et al.*, 2012). Este programa emplea el programa Phyml (Guindon y Gascuel, 2003) para los cálculos de la verosimilitud. El algoritmo calcula la verosimilitud que tiene cada modelo para explicar los cambios ocurridos en las secuencias analizadas. Estos valores de verosimilitud y el número de parámetros (k) requerido en cada modelo son considerados para decidir cual modelo de evolución molecular es el más adecuado. Para tomar esta decisión, en este estudio se empleó el Criterio de Información de Akaike Corregido (AIC_c) y el Criterio de Información Bayesiana (BIC) que involucra el valor de la máxima verosimilitud (I) el número estimable de parámetros (k) y el logaritmo del número de secuencias (n). El mejor modelo de sustitución para ambos criterios, Bayesiano y Akaike, será aquel que tiene el valor más cercano a cero de AIC_c y BIC (Posada y Buckley, 2004).

6.7.3- Demografía histórica

Para revisar los patrones relacionados con aspectos de demografía histórica, se revisaron las distribuciones de las diferencias pareadas entre todas las secuencias de ADN mitocondrial en una muestra (mismatch distribution ó prueba de desajuste de la distribución) (Harpending, 1994). Una vez calculados los parámetros demográficos y espaciales de la población, se generaron gráficos con los valores observados y

simulados de las diferencias pareadas en el eje de las ""X" y las frecuencias de las diferencias pareadas en el eje de las "Y", bajo el modelo de expansión repentina (crecimiento demográfico). Una distribución multimodal refleja una población en equilibro mientras que una distribución unimodal representa una poblacional que ha pasado por una expansión demográfica repentina (Rogers y Harpending, 1992). La prueba estadística para soportar procesos de expansión fue basada en el análisis de las desviaciones cuadradas (SSD) de los valores observados y de los valores simulados a partir del modelo de expansión. También se estimó el Índice de "*Raggedness*" (Harpending, 1994). En ambos casos la validez de la prueba fue basada sobre valores obtenidos mediante 10,000 re-muestreos. Estos análisis fueron realizados en el programa Arlequín 3.5.1.2 (Excoffier *et al.*, 2005).

Además de lo anteriormente mencionado, las pruebas de neutralidad también son indicadores de variación en el crecimiento poblacional, debido a que evalúan las secuencias obtenidas para ver si existe una evolución neutral o no. Las mutaciones neutrales varían de manera indistinguible de generación en generación, pero aquellas mutaciones no neutrales tienen efectos en el estado físico y sobrevivencia de las generaciones. Así, la revisión de la neutralidad también permite soportar si existió alguna expansión demográfica en la población estudiada debido al desequilibrio entre mutación y deriva genética. En este estudio se aplicaron tres pruebas de neutralidad. Se empleó la prueba de Tajima, la cual emplea el estadístico D (Tajima, 1989), que consiste en la cuantificación de las diferencias entre el valor de Theta basada en los sitios segregantes (θ_s) y la media de las divergencias pareadas entre las secuencias (θ_{π}). También, se realizó la prueba de Fu (Fu, 1997), que considera el estadístico Fs. Este estadístico usa como base el modelo de mutaciones de sitios infinitos sin recombinación, y evalúa la probabilidad de observar una muestra neutral azarosa con un número de alelos igual o más pequeño que el valor observado dado el número observado de diferencias pareadas; el valor de significancia de ésta prueba es p < 0.02. Estos análisis fueron realizados en el programa Arlequín 3.5.1.2 (Excoffier et al., 2005). Finalmente, se realizó la prueba R₂ de Ramos-Onsins y Rozas (2002), que se basa en las diferencias entre el número de mutaciones únicas (singleton) y el número promedio de diferencias nucleotídicas.

Knudsen y Miyamoto (2009) definen una mutación "singlenton" como aquel sitio polimórfico de una secuencia, el cual tiene una base única con respecto a aquel sitio polimórfico común de otra secuencia. Para calcular el 95% del intervalo de confianza para el valor de R₂, se hizo la simulación coalescente usando los sitios segregantes y 10,000 réplicas. La teoría coalescente hace énfasis en ver las poblaciones en retrospectiva sobre el espacio usando la divergencia de dicha población para estimar el tiempo del ancestro común más reciente (Sigwart, 2009). Esta prueba fue realizada en el programa DnaSP v5 (Librado y Rozas, 2009).

Para el cálculo del tiempo en años desde el momento de la expansión (T), primero se necesita calcular el número de generaciones pasadas para llegar a la presente generación (t). Así, t es igual a la tasa de mutación desde el inicio de la expansión al final, en escala de generaciones Tau (T), entre el producto de la información genética de la madre (2) y la probabilidad por generación de una mutación en cualquier parte de la secuencia (μ), es decir, t = τ / 2* μ . Después, T es igual al producto de t y el tiempo promedio entre dos generaciones consecutivas en el linaje de una población (tiempo de generación), es decir, T = t*Tiempo generacional. El parámetro θ_0 es el producto de la multiplicación de la información genética de la madre (2), por el número de individuos al inicio (N_0) y la tasa de mutación (μ) (Roger y Harpending, 1992; Rogers, 1995), el cual infiere el tamaño de la población al inicio de la expansión. Para fines de cálculo de T, se buscó el tiempo de generación y el porcentaje de divergencia por millones de años de la especie más cercana a la de éste estudio, S. rectifraenum. El valor del tiempo de generación usado en este estudio es de 3 años, estimado del tiempo aproximado para la maduración sexual de Chromis chromis y Chromis limbata (Mapstone y Wood, 1975; Dulcic y Kraljevic, 1995). Lo anterior debido a que las especies Chromis chromis y chromis limbata pertenecen a la misma familia que Stegastes rectifraenum. Sin embargo, considerando que estos supuestos pudieran no ser sólidos, los valores estimados deben tomarse con precaución. El porcentaje de divergencia por millones de años usado en éste estudio, 4.96, para el cálculo de la tasa de mutación, proviene del promedio entre 4.66 y 5.26, valores de porcentaje de divergencia estimados de la región control del ADN mitocondrial para las especies Chromis atrilobata y Chromis multilineata por Domingues et al., 2005.

6.8.- Patrón filogeográfico

Para el análisis de la relación entre la distancia geográfica y los rasgos genotípicos entre las poblaciones definidas por el Análisis de las Varianzas Moleculares (AMOVA) se usó el programa IBDWS v3.23 (Jensen *et al.*, 2005).

Para estimar si las causas de la diferenciación genética estarían en función de la distancia geográfica, se realizó una prueba de Mantel (Mantel, 1967) en el programa en línea de Isolation By Distance Web Service v3.23 (IBDWS). Esta prueba de Mantel consiste en ver si existe una correlación significativa (p<0.05) entre dos matrices: la matriz de distancias genéticas y la matriz de distancias geográficas (Cushman *et al.*, 2006). Para la distancia genética se emplearon los valores de Φ_{ST} (Excoffier et al., 1992; Weir, 1999) encontrado para cada par de localidades. Para reducir la varianza de los datos, los cálculos fueron realizados con datos transformados con logaritmo (log). Los estadísticos calculados para ambas matrices son Z y el valor de correlación r. Con base en Bohonak (2002), una vez obtenidos los valores de Z, se analiza la significancia de la correlación con la comparación de los valores de Z a una distribución de resultados de Z obtenidos al azar de la aleatorización de las columnas y filas de la matriz de distancias geográficas y manteniendo la matriz de distancias genéticas constante. Esta prueba, se basó en 10,000 permutaciones, los valores de las matrices se convirtieron con log y el modelo de sustitución seleccionado fue el de Kimura 2-parámetros (Kimura, 1980).

Finalmente, se construyó una red de haplotípos empleando el algoritmo *Median Joining* (MJ) (Bandelt *et al.*, 1999) usando el programa Network 4.6 (www.fluxusengineering.com). Este algoritmo, propuesto para construir redes principalmente con ADN mitocondrial, identifica grupos cercanos para favorecer conexiones cortas (algoritmo de Kruskal y algoritmo heurístico de máxima parsimonia de Farris) e introduce un ancestro hipotético para unir los grupos y generar una red de

parsimonia. El resultado es una red de haplotipos que muestra la relación entre ellos, la procedencia geográfica y su frecuencia.

VII.- RESULTADOS

7.1.- Identificación genética de Stegastes rectifraenum y Stegastes flavilatus

Todos los organismos fueron identificados morfológicamente empelando las claves taxonómicas especializadas. Esta identificación fue soportada mediante la revisión de las distancias genéticas encontradas en *S. rectifraenum* y en *S. flavilatus*, con quien la especie de estudio fenotípicamente podría confundirse. Las distancias genéticas de Kimura 2-P entre *Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus* (representada por individuos de Ixtapa-Zihuatanejo) y dentro de cada una de ellas basadas en la región control, se muestran en la Tabla 4. El total de secuencias analizadas fue de 16 con 476 pares de bases (pb). Las distancias genéticas entre las localidades para *S. rectifraenum* fueron similares y relativamente pequeños (0.017 \pm 0.003) comparados con los valores entre ambas especies (0.289 \pm 0.027). Las distancias genéticas entre *S. flavilatus* y el resto de los sitios representaron al menos unas 15 órdenes de magnitud.

Tabla 4. Distancias genéticas de Kimura 2 parámetros (Kimura, 1980) y ± error estándar de la región control del ADN mitocondrial de *Stegastes recifraenum* y *Stegastes flavilatus*. Las muestras de Bahía Concepción, Bahía de los Ángeles y Bahía Magdalena corresponden a la especie *Stegastes rectifraenum*. Para el sitio Ixtapa-Zihuatanejo, las muestras corresponden a *Stegastes flavilatus*.

Sitios	Bahía Concepción	Bahía de Los Ángeles	Bahía Magdalena	lxtapa- Zihuatanejo
Bahía Concepción				
Bahía de Los Ángeles	0.018 (± 0.004)			
Bahía Magdalena	0.019 (± 0.004)	0.013 (± 0.003)		
Ixtapa-Zihuatanejo	0.287 (± 0.027)	0.288 (± 0.027)	0.293 (± 0.027)	

Ningún haplotipo fue compartido entre las dos especies y ambas fueron claramente separadas en dos clados como se puede observar en el árbol mostrado en la Figura 3. Las secuencias se agruparon de acuerdo con la especie correspondiente: *Stegastes rectifraenum* o *Stegastes flavilatus*. Los individuos de *S. rectifraenum*,

provenientes de Bahía Concepción, Bahía Magdalena y Bahía de Los Ángeles, se agruparon en el mismo clado, mientras que los provenientes de Ixtapa-Zihuatanejo, correspondientes a la especie *S. flavilatus* fueron agrupadas en el otro clado. Los valores encontrados en cada nodo indican el soporte de la rama correspondiente en términos porcentuales. Como puede observarse el valor del soporte encontrado que separa ambas especies fue del 100%, es decir en todos los 10,000 re-muestreos generados se produjeron siempre dos clados integrados cada uno por los mismos individuos

Similar a lo anterior, las distancias genéticas también fueron estimadas empleando el COI. Para este análisis se emplearon 10 secuencias integradas por 526 pares de bases. Como se puede observar en la Tabla 5, las distancias genéticas entre las muestras de *S. rectifraenum* perteneciente a los sitios Bahía Concepción, Bahía de Los Ángeles y Bahía Magdalena son similares y relativamente pequeñas. Sin embargo, se observa que las distancias genéticas entre los sitios con muestras de la especie *S. rectifraenum* y el sitio Ixtapa-Zihuatanejo, conteniendo muestras de la especie *S. flavilatus* son varias decenas de órdenes de magnitud mayores, 61 veces, situación que se puede corroborar con los 58 sitios diferentes de 526 entre las dos especies (Anexo 1.).



Figura 3. Fenograma inferido después de 10000 réplicas por el método de re-muestreo (Bootstrap) entre las especies *Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus* creado con la región control del ADN mitocondrial. El árbol fue construido con el método *Neighbor-Joining* y usando las distancias genéticas de Kimura 2 parámetros. Las secuencias de *Stegastes rectifraenum* provienen de los sitios Bahía Concepción (BC), Bahía Magdalena (BM) y Bahía de Los Ángeles (BLA), y las secuencias de *Stegastes flavilatus* provienen de Ixtapa-Zihuatanejo (IZ).

Las distancias genéticas de Kimura 2-P entre ambas especies, y al interior de cada especie (S. *rectifraenum* y S. *flavilatus*), fueron respectivamente 0.124 (\pm 0.017), 0.001 (\pm 0.001) y 0.002 (\pm 0.002).

Tabla 5. Distancias genéticas de Kimura 2 parámetros (Kimura, 1980) y ± error estándar de Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI) del ADN mitocondrial de *Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus*. Las secuencias de Bahía Concepción, Bahía de Los Ángeles y Bahía Magdalena, corresponden a la especie *S. rectifraenum*. Las secuencias de Ixtapa-Zihuatanejo corresponden a la especie *S. flavilatus*.

Sitios	Bahía Concepción	Bahía de Los Ángeles	Bahía Magdalena	Ixtapa- Zihuatanejo
Bahía Concepción				
Bahía de Los Ángeles	0.001 (± 0.001)			
Bahía Magdalena	0.002 (± 0.001)	0.001 (± 0.001)		
Ixtapa-Zihuatanejo	0.125 (± 0.017)	0.124 (± 0.017)	0.123 (± 0.017)	

Con base en el COI se generó también un árbol para observar la agrupación de las secuencias de *Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus*. Como se puede observar en la Figura 4, las secuencias se agruparon de acuerdo con la especie. Para la especie *S. rectifraenum*, Bahía Concepción, Bahía Magdalena y Bahía de Los Ángeles, se agruparon en el mismo clado. Por otra parte, las secuencias de Ixtapa-Zihuatanejo pertenecientes a la especie *S. flavilatus* fueron agrupadas en otro clado. El soporte del nodo que separa las dos especies es el máximo esperado (100%).

Con base en los anteriores análisis, sustentados en las distancias genéticas entre las dos especies obtenidas de la región control y del COI, y de los haplotipos que caracterizan ambos taxa, los individuos empleados en el análisis poblacional fueron confirmados morfológica y molecularmente pertenecientes a la especie *S. rectifraenum*.



Figura 4. Fenograma inferido después de 10000 réplicas por el método de re-muestreo (Bootstrap) entre las especies *Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus* creado con el Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI) del ADN mitocondrial. El árbol fue construido con el método *Neighbor-Joining* y usando las distancias genéticas de Kimura 2 parámetros. Las secuencias de *Stegastes rectifraenum* provienen de los sitios Bahía Concepción (BC), Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía Magdalena (BM), y las secuencias de *Stegastes flavilatus* provienen de Ixtapa-Zihuatanejo (IZ).

7.2.- Análisis de población

7.2.1.- Diversidad molecular

Se recolectaron 144 Individuos, pero en siete no fue posible obtener amplificaciones exitosas de la región control, por tal motivo, el análisis poblacional se basó en 137 secuencias, a partir de las cuales se encontraron 131 haplotipos y solo seis de ellos fueron compartidos; es decir, se encontraron presentes cuando menos en dos localidades (Anexo 2). El número total de sitios polimórficos entre los 131 haplotipos fue de 240. Los valores de diversidad haplotípica fueron muy altos, lo cual se refleja en que en algunas localidades las diversidades alcanzaron el valor máximo (1.00) y en otras fue muy cercano a este. Alcanzar el máximo valor representa que todas las secuencias son distintas y por lo cual la probabilidad de escoger al azar dentro de la misma población dos haplotipos diferentes es 100%. El número total de secuencias,

de haplotipos y los valores estimados de las diversidades para cada localidad se puede observar en la Tabla 6.

El número de haplotipos y el número de sitios polimórficos variaron entre las localidades; sin embargo la comparación directa de ellos para inferir diferencias en la diversidad genética debe ser considerada con precaución debido a que ambos pueden estar correlacionados significativamente con el tamaño de la muestra. En este caso, las correlaciones encontradas fueron positivas (r=0.996, p= 0.000; r= 0.854, p=0.008). Los valores de diversidad nucleotídica no presentan correlación con el tamaño de la muestra (r= -0.024, p= 0.959) de esta manera este índice representa una mejor medida de la variabilidad sin verse afectado por las diferencias en el número de individuos analizadas en cada localidad.

Por la naturaleza de la métrica de la diversidad nucleotídica, los valores generalmente son pequeños debido a que las variaciones estimadas son estandarizadas por sitio nucleotídico. La menor diversidad nucleotídica fue encontrada en Bahía de Los Ángeles (0.012) y la mayor en Los Frailes (0.019) (Tabla 6). En general, los valores fueron relativamente similares, aunque con un ligero clinal de incremento latitudinal de norte a sur dentro del Golfo de California, en donde como previamente se indicó, Bahía de Los Ángeles (la localidad más norteña) presentó la menor diversidad y Los Frailes (la localidad más sureña) la mayor. Es importante mencionar, que aunque la población de Bahía Magdalena se localiza en la costa del Pacífico de la península, la diversidad nucleotídica estimada fue de las más altas.

Tabla 6.	Medidas	de	diversidad	genética	para	cada	sitio	de	muestreo	en	Stegastes	rectifraenum
usando u	n fragmer	nto	de la regiór	n control o	del AD	DN mit	tocon	dria	I. n= Núm	ero	total de seo	cuencias, H=
Número (de haplot	ípos	diferentes	, S= Nún	nero	de siti	os se	egre	gantes o	polir	nórficos, h	= Diversidad
haplotípic	a y π= Di	vers	idad nucleo	tídica. S.	D.= D	esviad	ión E	stár	ndar.			

Sitios	Ν	Н	S	h ± S.D.	π ± S.D.
BLA	23	23	34	1.000±0.013	0.012±0.007
BC	32	29	41	0.994±0.010	0.015±0.008
BM	29	27	52	0.995±0.011	0.017±0.009
ISJ	14	14	25	1.000±0.027	0.014±0.008
IES	9	9	20	1.000±0.052	0.015±0.009
EdM	13	13	31	1.000±0.030	0.016±0.009
LF	17	16	37	0.993±0.023	0.019±0.010
Total	137	131	240		

7.2.2.- Estructura poblacional

El modelo de sustitución nucleotídica empleado para estimar las varianzas moleculares fue el de Tamura-Nei más el valor de Gamma (TrN+G), el cual fue de 0.0970 (Tamura y Nei, 1993).

Los resultados del AMOVA muestran diferencias genética significativas entre las localidades en donde la varianza explica un 23.9% (ϕ_{st} =0.23944, p= 0.000±0.00<0.05, Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Va= Varianza del componente a, Vb= Varianza del componente b. ϕ_{sf} = Define el incremento de heterocigosidad haciendo permutaciones de los haplotípos entre poblaciones. * Indica significancia (p<0.05).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Varianza de los componentes	Porcentajes de variación	Índice de fijación
Entre poblaciones	6	159.507	1.197 Va	23.94	0.23944 \$ _{st} *
Dentro de las poblaciones	130	494.419	3.803 Vb	76.06	
Total	136	653.927	5.000		

Los resultados de las pruebas pareadas (Tabla 8), indicada por los valores de probabilidades para la medida de diferenciación poblacional ϕ_{st} para cuatro sitios localizados en el Golfo de California, LF, EdM, ISJ y IES no presentaron diferencias significativas entre sí (p > 0.05). Por otra parte, se observa que las dos poblaciones localizadas al norte del Golfo de California, BLA y BC, y el sitio localizado en la costa del Pacífico de la Península de Baja California, BM, no presentaron diferencias genéticas significativas (p > 0.05) entre ellas, pero si registraron diferencias con las otras localidades (LF, EdM, ISJ y IES, p < 0.05). Con base en lo anterior, se observa la presencia de dos grupos, uno conformado por LF, EdM, ISJ y IES y que será referido como Golfo de California y otro conformado por BLA, BC y BM y que será referido como Pacífico-Golfo.

Tabla 8. Matriz de las medidas de diferenciación poblacional (\$\$) entre sitios de muestreo (abajo de la diagonal) y los valores de probabilidad correspondientes (p ± Desviación Estándar), arriba de la diagonal. Con un valor de significancia con la corrección de Bonferroni p<0.002. LF= Los Frailes, EdM= Ensenada de Muertos, ISJ= Isla San José, IES= Isla Espíritu Santo, BC= Bahía Concepción, BLA= Bahía de Los Ángeles y BM= Bahía Magdalena. Valores calculados con el modelo Tamura-Nei+G (Tamura y Nei, 1993).

Sitios	LF	EdM	ISJ	IES	BC	BLA	BM
LF	-	0.87±0.00	0.20±0.00	0.73±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
EdM	-0.03	-	0.54±0.01	0.99±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
ISJ	0.02	-0.01	-	0.17±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
IES	-0.02	-0.06	0.03	-	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
BC	0.33	0.37	0.39	0.37	-	0.93±0.00	0.73±0.01
BLA	0.35	0.40	0.43	0.41	-0.02	-	0.69±0.01
BM	0.30	0.33	0.37	0.33	-0.01	-0.01	-

Una vez definidos los grupos, se realizó un análisis de las varianzas moleculares (AMOVA) jerárquico como se puede observar en la Tabla 9. No se presentaron diferencias genéticas significativas entre poblaciones dentro de cada grupo, Golfo de California y Pacífico-Golfo, (F_{SC} = -0.00875, p= 0.865>0.05). De igual forma el valor de la varianza (-0.033) y el porcentaje de variación (-0.56) para el componente b denotan que la variación dentro de sus respectivos grupos, no es considerable. Sin embargo, la diferenciación genética entre el grupo Golfo de California y Pacífico-Golfo es estadísticamente significativa (p<0.05) como lo denota la medida de diferenciación entre grupos (F_{CT} = 0.36435, p= 0.027). Igualmente, se nota un porcentaje de variación elevado (64.12) dentro de las poblaciones (BLA, BC, ISJ, IES, EdM, LF y BM).

Tabla 9. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Va= Varianza del componente a, Vb= Varianza del componente b y Vc= Varianza del componente c. F_{CT} = Define el incremento de heterocigosidad haciendo permutaciones de los haplotipos de las poblaciones entre grupos, F_{SC} = Define el incremento de heterocigosidad haciendo permutaciones de los haplotípos de las poblaciones dentro de los grupos y F_{ST} = Define el incremento de heterocigosidad haciendo permutaciones de los haplotípos de las poblaciones de los haplotipos entre poblaciones de los haplotipos. * Indica significancia (p<0.05).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Varianza de los componentes	Porcentajes de variación	Índices de fijación
Entre grupos	1	143.613	2.161 Va	36.43	0.36435 F _{ст} *
Entre poblaciones dentro de los grupos	5	15.894	-0.033 Vb	-0.56	-0.00875 F _{SC}
Dentro de las poblaciones	130	494.419	3.803 Vc	64.12	0.35879 F _{ST} *
Total	136	653.927	5.931		

7.2.3.- Demografía histórica

Los resultados obtenidos de las distribuciones de las diferencias pareadas entre las secuencias (missmatch distribution) mostraron una distribución unimodal (Figura 5). De acuerdo con la tendencia de la distribución pareada entre los valores observados y simulados se aprecia el ajuste entre ambas, lo cual soporta la expansión poblacional de los sitios muestreados. Las tendencias que más se ajustan son las de los sitios Bahía de Los Angeles, Bahía Concepción y Bahía Magdalena. Los sitios restantes localizados al sur del Golfo de California presentan tendencias de los valores observados con un poco de variación respecto a los valores del modelo; sin embargo, la forma de la distribución de los valores observados sigue la distribución del modelo de expansión. Además, existe una frecuencia mayor de las diferencias pareadas entre haplotipos para los sitios pertenecientes al grupo Pacífico-Golfo. Los parámetros de demografía histórica se pueden observar en la Tabla 10. Con base en Suma de Desviaciones Cuadradas y el Índice Raggedness de Harpending, para todos los sitios no se encontraron diferencias significativos (p>0.05), es decir, los datos se ajustan bien al modelo de expansión, por lo tanto, la hipótesis nula de expansión poblacional no se rechaza.

Las estimaciones obtenidas a partir de las pruebas de neutralidad indicaron que en los tres casos revisados, los parámetros empleados fueron en general estadísticamente significativos. La prueba de neutralidad de Tajima (D_T) fue significativa (p<0.05) para los sitios Bahía de Los Ángeles, Bahía Concepción, Ensenada de Muertos y Bahía Magdalena. Para los individuos de Bahía de Los Ángeles el valor de D_T (-1.824) fue negativo, el cual podría evidenciar que el tamaño de población está incrementando (expansión poblacional). Asimismo, los valores de D_T para las poblaciones de los sitios Bahía Concepción (-1.629), Ensenada de Muertos (-1.642) y Bahía Magdalena (-1.981) muestran una posible expansión poblacional. La prueba de F_s de Fu fue significativa (p<0.02) para todos los sitios. Los valores de F_s en todas las localidades fueron negativos, lo cual sugiere que hay un exceso en el número de alelos debido a una reciente expansión poblacional. Al igual que con la prueba de Fu, los valores del estadístico R₂ de Ramos-Onsins y Rozas fueron significativos (p<0.05) para todos los sitios. Así, los valores de R₂ sugieren expansión poblacional de *S. rectifraenum* en todos los sitios.

Para la población localizada en la costa del Pacífico peninsular, Bahía Magdalena, se estimó el tiempo más antiguo en el cual se dio la expansión poblacional (348,285 años) con respecto a las otras localidades. Entre los sitios localizados en el Golfo de California, Bahía Concepción y Bahía de Los Ángeles, localizado cercano al Alto Golfo y parte media del Golfo, respectivamente, tienen las fechas de expansión poblacional más antiguas 327,754 años y 260,167 años, respectivamente. Después, el sitio muestreado más al sur del Golfo, Los Frailes, tiene el cuarto valor (252,242 años), seguido por Isla Espíritu Santo e Isla San José, con 186,543 años y 154,803 años, respectivamente. El período de expansión poblacional más reciente ocurrido fue en Ensenada de Muertos (138,255 años).

Tabla 10. Parámetros de demografía histórica obtenidos a partir de un fragmento de la región control de ADN mitocondrial para cada sitio en donde se recolectaron especímenes de la especie *Stegastes rectifraenum*. $\tau(Tau)$ = Tiempo de generaciones en años, θ_0 (Theta)= Diversidad genética al tiempo de inicio de la expansión, θ_1 (Theta)= Diversidad genética al tiempo final de la expansión SDC= Suma de las Desviaciones Cuadradas, r= Índice Raggedness de Harpending, D_T= Prueba de Tajima (1989), F_s= Prueba de Fu (1997), R₂ = Prueba de Ramos-Onsins y Rozas (2002) y T= Tiempo en años desde el momento de la expansión. * Indica significancia (p<0.05) y para la prueba de Fu indica significancia a p<0.02.

p <0.02.									
Sitios	т	Θ₀	Θ1	SDC	r	DT	Fs	R ₂	т
Bahía de Los Ángeles	6.336	0.009	99999	0.005	0.022	-1.824*	-21.811*	0.048*	260,167
Bahía Concepción	7.982	0.007	99999	0.005	0.013	-1.629*	-21.376*	0.054*	327,754
Isla San José	3.770	0.000	99999	0.030	0.021	-1.459	-10.193*	0.067*	154,803
Isla Espíritu Santo	4.543	2.114	99999	0.009	0.028	-0.927	-4.050*	0.092*	186,543
Ensenada de Muertos	3.367	2.891	99999	0.013	0.022	-1.642*	-7.602*	0.066*	138,255
Los Frailes	6.143	3.612	86.875	0.006	0.011	-1.396	-7.636*	0.073*	252,242
Bahía Magdalena	8.482	1.336	28.715	0.003	0.004	-1.981*	-19.639*	0.046*	348,285



Figura 5. Conjunto de gráficas de la comparación de las diferencias pareadas vs frecuencias de los datos observados y simulados con el modelo de expansión repentina para todos los sitios muestreados.

7.3.- Aislamiento por distancia

Los resultados del análisis de aislamiento por distancia de todos los sitios de recolecta se muestran en la Tabla 11. Para el análisis se consideraron los dos tipos de mutación a nivel de secuencias de ADN, transición y transversión. Para los dos tipo de mutaciones, la correlación de las matrices de distancias geográfica y genética fue negativa y significativamente (p<0.05) diferente de cero. Sin embargo, el coeficiente de determinación (R^2) es bajo y el índice de correlación (r) es moderado para los dos tipos de mutaciones.

Tabla 11. Resultados de la prueba de Mantel para los análisis de correlación entre las matrices de distancias genéticas y geográficas de *Stegastes rectifraenum* empleando la región control del ADN mitocondrial. La prueba se hizo para los dos tipos de mutación a nivel de secuencia de ADN, transición y transversión. Z= Estadístico Z, r= Estadístico de correlación, R²= Coeficiente de determinación. * Indica significancia (p<0.05).

	Mutacion				
	Transición	Transversión			
Z	29.00	28.98			
R	-0.48	-0.49			
R^2	0.23	0.24			
Valor de probabilidad (p)	0.01*	0.01*			

En la Figura 6 se puede observar la correlación entre las distancias geográficas y genéticas. Los valores fuera del círculo rojo corresponden a la similitud genética entre los sitios dentro del grupo Golfo de California y aquellos dentro del círculo rojo corresponden al grupo Pacífico-Golfo, grupos anteriormente definidos por los resultados de los valores de probabilidad para la medida de diferenciación poblacional (Tabla 8).

La correlación negativa entre las matrices de distancias geográfica y genética explica la disminución de la similitud genética entre sitios conforme la distancia geográfica incrementa.



Figura 6. Correlación de las distancias geográficas vs distancias genéticas de *Stegastes rectifraenum* empleando la región control del ADN mitocondrial. Los puntos fuera del círculo rojo muestran los valores de las correlaciones con el mayor índice de similitud de Slatkin, LF-EdM, LF-ISJ, LF-IES, EdM-ISJ, EdM-IES, ISJ-IES, BC-BLA, BC-BM y BLA-BM. El círculo en rojo muestra los valores de las correlaciones con el menor índice de similitud de Slatkin M= $((1/\Phi_{ST})-1)/4$, LF-BC, LF-BLA, LF-BM, EdM-BC, EdM-BLA, EdM-BM, ISJ-BC, ISJ-BLA, ISJ-BM, IES-BC, IES-BLA y IES-BM.

La Tabla 12 muestra la prueba mantel solo con los sitios dentro del Golfo de California sin incluir BM. Para los dos tipo de mutaciones (transición y transversión), la correlación de las matrices de distancias geográfica y genética fue negativa y significativamente (p<0.05) diferentes de cero. A diferencia de los resultados mostrados en la Tabla 11, el coeficiente de determinación (R²) es más alto y el índice de correlación (r) es también alto para los dos tipos de mutaciones. Lo anterior es debido a que no se incluyeron a los individuos de Bahía Magdalena debido a que aun encontrándose distribuidos en los sitios extremos, estos individuos tienen una alta similitud genética con los encontrados en el norte del Golfo de California.

Tabla 12. Resultados de la prueba de Mantel para los análisis de correlación entre las matrices de distancias genéticas y geográficas para *Stegastes rectifraenum* empleando la región control del ADN mitocondrial de los seis sitios dentro del Golfo de California, Bahía de Los Ángeles, Bahía Concepción, Isla San José, Isla Espíritu Santo, Ensenada de Muertos y Los Frailes. La prueba se hizo para los dos tipos de mutación a nivel de secuencia de ADN, transición y transversión. Z= Estadístico Z, r= Estadístico de correlación, R²= Coeficiente de determinación. * Indica significancia (p<0.05).

	Mutación				
	Transición	Transversión			
Z	26.98	27.01			
r	-0.75	-0.75			
R^2	0.56	0.56			
Valor de probabilidad (p)	0.02*	0.02*			

7.4.- Red de linajes de la especie Stegastes rectifraenum

En la Figura 7 se puede observar la red de linajes para la especie *S. rectifraenum*. Principalmente se aprecia la división de dos linajes. Uno conformado por individuos de la parte superior de la red y representando las localidades de Bahía Concepción (BC), Bahía Magdalena (BM) y Bahía de Los Ángeles (BLA). El otro conformado por individuos de la parte inferior de la red de las localidades Isla San José (ISJ), Isla Espíritu Santo (IES), Ensenada de Muertos (EdM) y Los Frailes (LF). Los círculos con mayor área y con colores diferentes denotan los haplotipos compartidos dentro del grupo. Para el linaje conformado por los sitios BC, BM y BLA se comparten 8 haplotipos y para el linaje conformado por ISJ, IES, EdM y LF comparte 6 haplotipos. Además, se observan tres haplotipos del sitio Los Frailes más emparentado al linaje conformado por el grupo Pacífico-Golfo.



Figura 7. Red de haplotípos para el análisis filogeográfico de la especie *Stegastes rectifraenum*. Negro= Isla San José, Amarillo= Isla Espíritu Santo, Azul= Ensenada de Muertos, Verde= Los Frailes, Lila= Bahía Magdalena, Naranja= Bahía Concepción y Olivo= Bahía de Los Ángeles.

VIII.- DISCUSIÓN

Identificación genética de Stegastes rectifraenum

Los resultados encontrados en el presente estudio permitieron discriminar a *Stegastes rectifraenum* de *S. flavilatus*. Esto resultó relevante debido a su alta similitud morfológica y por compartir una distribución geográfica cercana, hace que su identificación en campo sea en ocasiones complicada, sobre todo si no se cuenta con la experiencia necesaria (Anexo 3). Por esta razón, y para evitar errores de identificación y en consecuencia resultados espurios, se complementó el uso de la revisión morfológica con datos genéticos, particularmente con el empleo de secuencias de ADNmt (región control y la Subunidad I del Citocromo Oxidasa, COI).

Los análisis taxonómicos basados en datos moleculares consideran la similitud relativa de los miembros de un clado determinado respecto a la similitud existente con otro clado y recíprocamente monofilético. De esta manera se puede reconocer la fuente principal de la varianza genética. Nuestros resultados indican que la distancia genética entre las dos especies fue considerablemente notoria respecto a la distancia encontrada entre los individuos de cada una de ellas. Trabajos como el de Stelkens y Seehausen (2009) recopilan distancias genéticas a partir del gen Citocromo b entre especies de peces de la familia en Cyprinidae donde se observan distancias que van de 0.0332 entre las especies Notemigonus crysoleucas Scardinius ٧ erythrophthalmus hasta 0.196 entre las especies Semotilus atromaculatus y Rhinicthys atratulus. Por otra parte, Stelkens et al. (2009) también reportan valores de distancias genéticas entre especies de la familia Cichlidae, de 0.0188 a 0.0553 empleando la región control del ADNmt. Los resultados obtenidos por Stelkens y Seehausen (2009) no podrían ser empleados como referencia directa, debido a que los autores usaron un gen distinto al que se revisó en el presente trabajo y las tasas de mutación pueden variar considerablemente entre ellos. Pero no así para el trabajo hecho por Stelkens et al. (2009).

Con la incorporación de una gran cantidad de información relacionada con el proyecto sobre códigos de barra del ADN (Hajibabaei *et al.*, 2007), muchos datos han

sido publicados sobre distancias genéticas basadas en el COI con fines taxonómicos (Ward *et al.*, 2005). En el trabajo de Toffoli *et al.* (2008) obtuvieron distancias genéticas con el gen COI de especies de la familia Potamotrygonidae que fluctuaron entre 0.00578 a 0.23937. Ellos hacen mención de una especie en específico, *Potamotrygon leopoldi*, cuyos valores encontrados entre 0.00578 y 0.09963 no permitieron discriminar ésta especie de las otras pertenecientes a la misma familia.

En el presente trabajo, el valor de la distancia genética de Kimura 2-P entre ambas especies para la región control fue de 0.289 y para COI de 0.124. Estos valores son congruentes con los encontrados en trabajos previos, pero además son relativamente altos respecto a las distancias encontradas entre individuos de la misma especie, indicando un espacio evolutivo suficientemente discreto como para fortalecer que nuestra identificación basada en datos genéticos es soportada de manera robusta. Así, se tiene la certeza de que los individuos recolectados en este estudio para el análisis poblacional corresponden a organismos de *Stegastes rectifraenum*.

Análisis poblacional de Stegastes rectifraenum

Los resultados encontrados sugieren que *Stegastes rectifraenum* no se encuentra integrada por una población homogénea. Nuestros datos indican diferencias poblacionales que permiten suponer que el flujo genético entre las localidades estudiadas es limitado. En este trabajo se encontró mediante secuencias de un fragmento de la región control del ADN mitocondrial que las muestras estudiadas de *Stegastes rectifraenum* conforman cuando menos dos poblaciones genéticamente diferentes. Una integrada por individuos distribuidos en BLA, BC y BM, denominada como grupo Pacífico-Golfo y la otra conformado por individuos de ISJ, IES, EdM y LF, denominada como grupo Golfo de California.

Distinto a lo que podría esperarse sobre una mayor similitud genética en función de su cercanía geográfica y el patrón de corrientes, los datos obtenidos indican una agrupación que no es completamente congruente con ese planteamiento. La posibilidad de que las características biológicas de la especie antes mencionada

como el cuidado parental, la presencia de huevos bentónicos en nidos y el comportamiento territorial (Petersen y Marchetti, 1989; Hoelzer, 1992), son los factores que podrían propiciar la fragmentación genética de esta especie. La dispersión de la larva pelágica por acción de las corrientes se observa restringida, al parecer la duración de la larva pelágica para esta especie no es suficiente para producir una población panmíctica. Lo anterior concordaría con lo encontrado en la especie de *Cottus pollux* cuya duración de la larva pelágica es entre 35 y 48 días, pero con una población estructurada (Tsukagoshi *et al.*, 2011). Sin embargo, la explicación de estos hallazgos resulta más compleja que la simple explicación de aislamiento por distancia, corrientes y duración de la larva pelágica, desde que los individuos encontrados en los extremos del área de estudio fueron los que no mostraron diferencias genéticas significativas. A continuación se discuten algunas ideas sobre las razones que podrían explicar estos resultados.

Hipótesis de las causas sobre la estructura poblacional dentro del Golfo de California

La separación de lo que hoy conocemos como la Península de Baja California del continente se llevó a cabo hace aproximadamente entre seis y diez millones de años debido a la extensión de las placas de Norte América y Pacífico (Umhoefer, 2011). Esto propició una apertura que permitió la incursión de masas de agua provenientes del Pacífico con un flujo de sur a norte y de igual forma se infiere que la fauna marina fue poblando este nuevo hábitat. Lo anterior podría darnos la idea de que las especies que habitan el Golfo de California formaron en sus inicios poblaciones panmícticas, es decir poblaciones homogéneas en este mar incipiente. Actualmente hay ejemplos que sugieren que esta situación aún prevalece, y hay otros que reflejan especies estructuradas en poblaciones tal y como lo reportan Bernardi *et al.* (2003) encontrando que para las especies *Leuresthes tenuis, Girella nigricans, Chaenopsis alepidota, Hypsoblennius jenkinsi y Paralabrax maculatofasciatus*, existe divergencia genética entre individuos provenientes de ambas zonas; pero para las especies *Halichoeres semicinctus, Semicossyphus pulcher, Hermosilla azurea y Sebastes macdonaldi*, no se encontró divergencia significativa. Los resultados encontrados en

este estudio sustentan la idea de que *Stegastes rectifraenum* dentro del Golfo de California presenta una estructura poblacional, la cual se caracteriza por la presencia de una población conformada por individuos de las localidades del norte (Bahía de los Ángeles y Bahía Concepción) y otra integrada por individuos de las localidades del sur (Isla San José, Isla Espíritu Santo, Ensenada de Muertos y la localidad de Los Frailes).

Las causas de la estructura genética poblacional encontrada dentro del Golfo de California podrían estar asociadas con la topografía del sustrato a lo largo de la costa y al efecto de éste sobre el patrón de corrientes marinas además de las condiciones oceanográficas, retención de partículas en zonas del Golfo de California, grandes profundidades y periodos de glaciación. Wright et al. (1973) mencionan que la variación topográfica del fondo es menos pronunciada en la costa peninsular del Golfo de California que en la del Pacífico. Además, en la parte del Golfo la plataforma continental tiene pendientes e inclinaciones súbitas que generan cambios de profundidad bruscos. A lo largo de la costa peninsular del Golfo de California existen también diferentes tipos de hábitats, desde los más abundantes como camas de algas, paredes submarinas, arenosos, rodolitos y rocas de granito, hasta los menos abundantes como coral negro y montañas submarinas, además de los hábitats más escasos tales como corales y pastos marinos. También, a lo largo de la Península en el Golfo de California la costa es principalmente rocosa, con excepción de la parte suroeste de la Bahía de La Paz (Sala et al., 2002). La especie Stegastes rectifraenum habita principalmente zonas arrecifales rocosas y coralinas que propician una superficie adecuada para su alimentación y crianza a lo largo del año (Moreno-Sánchez et al., 2011). Considerando lo anterior y aun cuando la costa es rocosa, la presencia de corales es escasa y principalmente localizada al sur del Golfo de California, tal y como muestran Sala et al. (2002). Durante nuestra recolecta de los individuos de S. rectifraenum se observó que aparte de que habitan zonas rocosas, también se observan en zonas con presencia de corales del género Pocillopora.

Con base en la Prueba de Mantel, se encontró para los individuos del Golfo de California, que conforme la distancia geográfica aumenta, la similitud genética entre los individuos de *S. rectifraenum* disminuye. La distancia geográfica entre los dos sitios (BC e ISJ) que marcarían el borde entre las dos poblaciones es de unos 223 km. Aunado a otros factores, este espacio podría también ser importante para limitar el flujo genético entre individuos de las dos áreas y disminuir la conectividad entre poblaciones de *S. rectifraenum*.

La idea general de una corriente ciclónica y anticiclónica como medio de transporte larval a lo largo del Golfo de California no se puede considerar como un simple proceso oceanográfico debido a patrones de advección a lo largo de la costa, procesos físicos tales cómo vientos, frentes, mareas, límites de capas en la superficie y fondo y oleaje, los cuales modifican y actúan de manera particular debido a la batimetría de la zona, profundidad y presencia de promontorios; así, los patrones de corrientes son alterados a nivel microescala (Gaines et al., 2007). También, la rugosidad del fondo marino reduce la velocidad y modifica la capacidad de arrastre de las corrientes, ya que cuando éstas pasan sobre un sustrato muy rugoso, la energía de la corriente se transforma de un flujo horizontal a un movimiento vertical debido a los saltos que genera el choque de la corriente con objetos sobresaliendo del suelo tales como rocas, formaciones coralinas, etc. (Grubisic et al., 1995). Tal reducción en la velocidad de la corriente y la magnitud del flujo vertical son menores en aguas profundas que en aguas someras (Pineda et al., 2007). Debido a que individuos de S. rectifraenum habitan principalmente aguas someras y arrecifales (Aceves-Medina et al., 2003; Sánchez-Velasco et al., 2004; Alvarez-Filip et al., 2006; Villegas-Sánchez et al., 2009;), podrían estar sujetos a una considerable disminución de su transporte larval entre las dos poblaciones a través de los 223 km, y a permanecer cerca del sitio de eclosión.

Aunado al posible efecto que podría tener la topografía del fondo costero, la retención de partículas también es importante. Durante la mayor parte del año en la zona que comprende los sitios de Bahía de Los Ángeles y Bahía Concepción, así como en el área en donde se encuentra la Isla San José, la Isla Espíritu Santo,

Ensenada de Muertos y Los Frailes, existe un alta retención de partículas (Peguerolcaza *et al.*, 2008; Marinone, 2012). En el trabajo que realizaron Marinone *et al.* (2008), mencionan que los patrones de conectividad se dan durante la corriente ciclónica, que permite la llegada de larvas desde la costa continental a la costa de la península, lo cual soporta la ruta de norte a sur de partículas mencionado por Peguero-Icaza *et al.* (2008). Con base en el presente estudio, estas corrientes no parecen influir en la homogenización de larvas de *S. rectifraenum* en el Golfo de California considerando la diferenciación poblacional observada. Resultará interesante realizar recolectas a lo largo del área comprendida entre Bahía Concepción e Isla San José con la intención de identificar en qué punto se genera el distanciamiento genético para luego hacer estudios topográficos, batimétricos y oceanográficos e identificar el factor que interrumpe el flujo genético entre ambas poblaciones.

Por otro lado, a lo largo del Golfo de California existen cinco cuencas submarinas: Delfín, Guaymas, Carmen, Farallón y Pescadero. De éstas, la cuenca Farallón muestra un perfil batimétrico que inicia a partir de la costa con una profundidad de 200 m aproximadamente (Rusnak *et al.*, 1964). De acuerdo con la preferencia de aguas someras menores a 30 m para la especie, dicha profundidad parece actuar como una barrera no física entre las dos poblaciones, además de que los patrones de corrientes debido a la profundidad en la zona de la cuenca Farallón podría estar limitando o evitando el arrastre de larvas, por lo cual se genera la hipótesis que a la altura de Isla Santa Cruz se observaría genéticamente la división entre las poblaciones.

Hipótesis sobre la estructura poblacional Golfo de California- Pacifico

El Golfo de California se formó debido a la divergencia oblicua entre las placa de Norte América y el Pacífico. Así, desde hace 10-6 millones de años a la fecha, algunas especies marinas se han adaptado tanto dentro del Golfo de California como en las costa peninsular del Pacífico y en algunas de ellas el intercambio genético entre poblaciones del Pacífico y Golfo de California es limitado (Jacobs *et al.*, 2004). En este estudio no se encontraron diferencias genéticas significativas entre individuos de S. rectifraenum procedentes de Bahía Magdalena e individuos de Bahía de Los Ángeles y Bahía Concepción, éstas últimas encontradas dentro del Golfo de California, más precisamente en la región media del Golfo. Existen varios trabajos en los cuales se comparan especies con distribución en ambas costas de la Península de Baja California, los cuales han mostrado que existe una cercanía genética entre individuos del norte del Golfo de California y del Pacífico (Jacobs et al., 2004). Una de las hipótesis planteadas para explicar estos hallazgos se ha centrado en el reconocimiento de la importancia que en el pasado tuvo la presencia de paleocanales interpeninsulares para el intercambio de individuos entre el Pacífico y Golfo de California. Los efectos de este evento no solo han sido asociados a especies marinas, sino por diversas especies terrestres que durante la formación de estos canales vieron interrumpida su comunicación a través de la península (Upton y Murphy, 1997; Dyer et al., 2010). Para el caso de éste trabajo, se retoma la idea de la presencia del paleocanal interpeninsular que pudo haber tenido su localización en la región central del Vizcaíno, en el área de San Ignacio (Helenes y Carreño, 1999), hace menos de 1.6 millones de años (Riddle *et al.*, 2000). Dicho paleocanal pudo haber sido la conexión más reciente entre la fauna marina del Pacífico con la parte norte del Golfo de California.

Los altos valores de diversidad se han asociado a poblaciones viejas debido a que un mayor tiempo evolutivo tuvo que haber ocurrido para generar un mayor número de variantes alélicas. Haciendo referencia a lo anterior, los valores de diversidad nucleotídica podrían ayudar a definir las poblaciones más viejas, tal y cómo menciona Primmer *et al.* (2002). En el presente estudio en las localidades de Bahía Magdalena y de Los Frailes se encontraron los valores más altos de diversidad nucleotídica (0.017 y 0.019, respectivamente); Los Frailes localizado en la parte más al sur de los sitios estudiados y Bahía Magdalena en la costa del Pacífico de la península. Por tal motivo, estas localidades (Bahía Magdalena y Los Frailes) de cada uno de los dos grupos genéticos (Pacífico-Golfo y Golfo de California), podrían representar las poblaciones más viejas y las que dieron origen a las demás. Considerando lo anterior, el ingreso de individuos de *Stegastes rectefraenum* al Golfo de California pudo haber ocurrido a través de dos vías; por una parte, a través de la

boca del Golfo (quizá la vía más antigua) y por otra, a través de la parte media de la península por los paleocanales interpeninsulares. De esta manera, las poblaciones más recientes para cada grupo podrían ser aquellas encontradas hacia el norte del Golfo de California. Así, considerando los clinales de la frecuencia de las diferencias pareadas, la distribución actual de *Stegastes recrtirfrenum* también está asociada a eventos demográficos históricos relativamente recientes.

Considerando lo anterior, los cambios geológicos y climáticos ocurridos en el Océano Pacífico pudieron impactar la distribución de Stegastes rectifraenum principalmente en dos momento históricos, uno asociado al movimiento interpeninsular y otro a eventos de expansión más locales. En general, en los periodos de glaciación la fauna marina se concentró en zonas ecuatoriales, lo cual hizo de ésta un área muy diversa y competitiva entre las especies. Al aumentar la temperatura, el hielo glaciar del norte fue cediendo terreno, tanto latitudinal como longitudinalmente, y algunas especies tropicales costeras empezaron a ampliar su distribución más al norte (Marko, 2004). Es importante denotar que la especie S. rectifraenum pudo haber migrado más al norte sobre la costa peninsular del Pacífico y dentro del Golfo, lo cual también explica la menor diversidad hacia el extremo norte de su área de distribución después de eventos de colonización. Así, el cambio climático pudo haber incidido en la migración latitudinal y longitudinal de ésta especie. También, los cambios en el nivel del mar fomentaron frecuentes eventos de aislamiento y conectividad entre las poblaciones del sur y entre las poblaciones del norte de S. rectifraenum en el Golfo de California. De igual manera, los cambios en el nivel del mar durante el Pleistoceno pudieron haber permitido la migración del Pacífico al norte del Golfo de California a través del paleocanal interpeninsular llamado San Ignacio. Al mismo tiempo, tanto el cambio climático como el incremento del nivel del mar debido a los periodos de glaciación de los últimos 800 000 años (Imbrie et al., 1984), tienen un factor común que es la variación de la temperatura ambiental, la cual cambió y las latitudes septentrionales se volvieron habitables para permitir la migración de especies de climas templados más al norte, tal y como mencionan Valentine y Jablonski (1991).

Las distintas pruebas realizadas para abordar la estabilidad histórica de la población sugieren que la especie pasó por un evento de expansión repentino en un momento histórico, posterior al comentado previamente relacionado con los paleocanales interpeninsulares. Los resultados significativos de la prueba de Fu (1997), el estadístico R₂ (Ramos-Onsins y Rozas, 2002) y el ajuste significativo al modelo de expansión poblacional mostrado con los gráficos de diferencias pareadas (Harpending, 1994), sugieren una especie con dos poblaciones que ha experimentado un evento repentino de expansión poblacional. Éste, parece haber impactado principalmente a la población del Golfo de California considerando que los menores valores de diversidad de las localidades del norte que conforman este grupo (ISJ, IES y EdM) y sus curvas de las diferencias pareadas que sugieren un clinal en la distribución de las diferencias, parecen indicar las poblaciones más recientes de todas las estudiadas en este trabajo. Una estimación burda (considerando que la tasa de mutación empleada para la estimación no es propia de la especie) del momento de la expansión (T), podría fluctuar entre los 138,255 y 348,285 años, fechas en las cuales ocurrieron periodos de glaciación e interglaciación (Imbrie et al., 1984).

El presente estudio se basó en el análisis de un fragmento de la región control del ADNmt. La información que aporta este marcador depende de su elevada tasa de mutación y de la naturaleza de su modo de transmisión uniparental. Los resultados obtenidos de esta manera indicaron que *S. rectifraenum* presenta una estructura poblacional compleja. Marcadores moleculares con características distintas podrían indicar o precisar un análisis más profundo. Una explicación complementaria debería ser obtenida de: 1) el análisis con un marcador con mayor polimorfismo. Posiblemente que el uso de un marcador más variable tal como microsatelites podría arrojar una diferenciación genética entre los individuos de BM y los individuos de los sitios BLA y BC. 2) marcadores más conservados como el COI que permitan reducir el número de haplotipos, revisar aquellos más frecuentes y profundizar en los aspectos filogeográficos. Adicional a los marcadores genéticos, un mayor número de muestras y una recolecta geográficamente puntual (ej. Los Cabos, B.C.S.) y más

amplia (costa del macizo continental) aportaría un panorama más claro de la estructura genética poblacional de *S. rectifraenum*.

Sin embargo, trabajos como el de Hess *et al.* (2011) y Miller *et al.* (2011) demuestran que los marcadores mitocondriales pueden ser lo suficientemente variables para probar diferenciación genética en una población al compararlo con microsatelites. De lo anterior se podría decir que el uso de otro marcador mitocondrial tal como COI saldría la misma diferenciación genética entre individuos del grupo Pacífico-Golfo y Golfo de California.
IX.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1.- Los análisis moleculares basados en las distancias genéticas y los sitios nucleotídicos divergentes indican que *Stegastes rectifraenum* puede reconocerse de *Stegastes flavilatus*. Estos resultados junto con los obtenidos de la identificación morfológica soportan que en este trabajo no se incluyeron individuos de *Stegastes flavilatus* al momento del análisis realizado para *Stegastes rectifraenum*.

2.- La especie *Stegastes rectifraenum* se encuentra estructurada en poblaciones. Dentro del Golfo se pudo reconocer la presencia de dos poblaciones, una al norte conformada por individuos provenientes de Bahía de Los Ángeles y Bahía Concepción y otra al sur, integrada por individuos distribuidos en Isla San José, Isla Espíritu Santo, Ensenada de Muertos y Los Frailes. La distancia geográfica, corrientes, profundidad y topografía podrían explicar esta estructura poblacional.

3. Las características genéticas de los individuos provenientes de Bahía Magdalena sugieren que ésta es una población distinta a la representada por la del sur del Golfo (Isla San José, Isla Espíritu Santo, Ensenada de Muertos y Los Frailes).

4. La población de Bahía Magdalena no mostró diferencias significativas con las localidades del norte del Golfo de California (Bahía de Los Ángeles y Bahía Concepción). Eventos históricos, relacionados con conexiones existentes entre el Golfo de California y el Pacífico a través de la parte media de la península, podría explicar esta similitud considerando un elevado intercambio de individuos ocurridos en ese tiempo. Marcadores moleculares más polimórficos podría arrojar diferencias entre ambos sitios.

5. Los valores de diversidad genética y las curvas de diferencias pareadas entre las secuencias, indican que esta especie pasó por un proceso repentino de expansión poblacional. Nuestras estimaciones indican que las expansiones principalmente podrían estar asociadas a periodos de glaciación e interglaciación ocurridos entre 138,255 y 348,285 años.

62

Se recomienda recolectar individuos de *S. rectifraenum* dentro del Golfo de California para reducir el distanciamiento geográfico entre sitios de muestreo y así identificar puntos de distanciamiento genético; por ejemplo, muestras colectadas entre Bahía Concepción e Isla San José para determinar los sitios de división poblacional de ésta especie. También es importante considerar muestras provenientes de la costa del macizo continental y revillagigedo para tener una mejor comprensión de cómo la especie en toda su área de distribución se encuentra estructurada. Por ejemplo, ¿Con quiénes tienen mayor similitud, con la población del sur o con la del norte del Golfo de California? Lo anterior deberá ser soportado con marcadores moleculares con diferentes tasas de mutación, de tal manera que permitan tener una idea más clara de las fechas de los eventos ocurridos y los factores que han originado la estructura genética poblacional actual de esta especie.

X.- BIBLIOGRAFÍA

- Aburto-Oropeza, O. y Balart, E.F. 2001. Community structure of reef fish in several hábitats of a rocky reef in the Gulf of California. Marine Ecology. 22(4): 283-305.
- Aceves-Medina, G., Jiménez-Rosenberg, S.P.A., Hinojosa-Medina, A.,
 Funes.Rodriguez, R., Saldierna, R.J., Lluch-Belda, D., Smith, P.E. y Watson,
 W. 2003. Fish larvae from the Gulf of California. Scientia Marina. 67(1): 1-11.
- Aceves-Medina, G., Saldierna-Martínez, R., Hinojosa-Medina, A., Jiménez-Rosenberg, S.P.A., Hernández-Rivas, M.E. y Morales-Ávila, R. 2008. Vertical structure of larval fish assemblages during diel cycles in summer and Winter in the southern part of Bahía de La Paz, Mexico. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 76: 889-901.
- Allen, G.R. y Robertson, D.R. 1998. Fishes of the tropical eastern Pacific. Second Edition. Crawford House Press PTY Ltd. Publisher in the USA Hawaii University Press, 327 p.
- Alvarez-Filip, L., Reyes-Bonilla, H. y Calderón-Aguilera, L.E. 2006. Community structure of fishes in Cabo pulmo Reef, Gulf of California. Marine Ecology. 27: 253-262.
- Anderson, C.A. 1950. The 1940 E.W. Scripps cruise to the Gulf of California. Part I: Geology of the islands and neighboring land areas. Geol. Soc. Am. Mem. 43: 1-53.
- Armsworth, P.R. 2002. Recruitment limitation, population regulation, and larval connectivity in reef fish metapopulations. Ecology. 83(4): 1092-1104.
- Atema, J., Kingsford, M.J. y Gerlach, G. 2002. Larval reef fish could use odour for detection, retention and orientation to reefs. Marine Ecology Progress Series. 241: 151-160.

- Avendaño-Ibarra, R., Funes-Rodríguez, R., Hinojosa-Medina, A., González-Armas, R. y Aceves-Medina, G. 2004. Seasonal abundance of fish larvae in a subtropical lagoon in the west coast of the Baja California Peninsula. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 61: 125-135.
- Ayala-Bocos, A. y Reyes-Bonilla, H. 2008. Analysis of reef fish abundance in the Gulf of California, and projection of changes by global warming. Proc. 11th Int. Coral Reef Symp. 25: 1276-1280.
- Bandelt, H.-J., Forster, P. y Röhl, A. 1999. Median-Joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol. Biol. Evol. 16(1): 37-48.
- Barber, P.H., Palumbi, S.R., Erdmann, M.V. y Moosa, M.K. 2000. A marine wallace's line?. NATURE. 406: 692-693.
- Bay, L.K., Buechler, K., Gagliano, M. y Caley, M.J. 2006. Intraspecific variation in the pelagic larval duration of tropical reef fishes. Journal of Fish Biology. 68: 1206-1214.
- Becker, B.J., Levin, L.A., Fodrie, F.J. y McMillan, P.A. 2007. Complex larval connectivity patterns among marine invertebrate populations. PNAS. 104(9): 3267-3272.
- Beier. E. 1997. A numerical investigation of the annual variability in the Gulf of California. American Meteorological Society. 27: 615-632.
- Beier, E. y Ripa, P. 1999. Seasonal gyres in the northern Gulf of California. Journal of Physical Oceanography. 29: 305-311.
- Bernardi, G., Findley, L. y Rocha-Olivares, A. 2003. Vicariance and dispersal across Baja California in disjunct marine fish populations. Evolution. 57(7): 1599-1609.
- Bohonak, A.J. 2002. IBD(Isolation by Distance): a program for analyses of isolation by distance. The Journal of Heredity. 93(2): 153-154.

- Booth, D.J., Bond, N. y Macreadie, P. 2011. Detecting range shifts among Australian fishes in response to climate change. Marine and Freshwater Research. 62: 1027-1042.
- Castro, R., Mascarenhas, A.S., Durazo, R. y Collin, C.A. 2000. Seasonal variation of the temperature and salinity at the entrance to the Gulf of California, Mexico. Ciencias Marinas. 26(4): 561-583.
- Cowen, R.K., Lwiza, K.M.M., Sponaugle, S., Paris, C.B. y Olson, D.B. 2000. Connectivity of marine populations: Open or closed?. Science. 287(5454): 857-859.
- Cowman, P.F. y Bellwood, D.R. 2013. Vicariance across major marine biogeographic barriers: temporal concordance and the relative intensity of hard versus soft barriers. Proc. R. Soc. B. 280: 20131541.
- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J. y Schwartz, M.K. 2006. Gene flow in complex landscape: testing multiple hypotheses with causal modeling. The American Naturalist. 168(4): 486-499.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. y Posada, D. 2012. jModelTest2: more models, new heuristics and parallel computing. Nature Methods. 9(8): 772.
- Domingues, V.S., Bucciarelli, G., Almada, V.C. y Bernardi, G. 2005. Historical colonization and demography of the Mediterranean damselfish, *Chromis chromis*. Mol. Ecol. 14: 4051-4063.
- Dulcic, J. y Kraljevic, M. 1995. Age, growth, and mortality of damselfish (*Chromis chromis L.*) in the eastern middle Adriatic. Fisheries Research. 22: 255-264.
- Durhan, J.W. y Allison, E.C. 1960. Geological history of Baja California and its marine environments. Syst. Zool. 9: 47-91.
- Dyer, R.J., Nason, J.D. y Garrick, R.C. 2010. Landscape modelling of gene flow: improved power using conditional genetic distance derived from the topology of population networks. Molecular Ecology. 19: 3746-3759.

- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics. 1:47-50.
- Excoffier, L., Smouse, P.E. y Quattro, J.M. 1992. Analysis of Molecular Variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics Society of America. 131: 479-491.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution. 39(4): 783-791.
- Figueroa, J.M., Marinone, S.G. y Lavín, M.F. 2003. A description of geostrophic gyres in the southern Gulf of California, 237-255. En: Velasco-Fuentes, O.U., Sheinbowm, J. y Ochoa de la Torre, J.L. (Eds.) Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, the Netherlands.
- Fisher, R., Bellwood, D.R. y Job, S.D. 2000. Development of swimming abilities in reef fish larvae. Marine Ecology Progress Series. 202: 163-173.
- Fogarty, M.J. y Botsford, L.W. 2007. Marine population connectivity: Population connectivity and spatial management of marine fisheries. Oceanography. 20(3): 112-113.
- Forsgren, E., Reynolds, J.D. y Berglund, A. 2002. Behavioural ecology of reproduction in Fish, 225-247. En: Hart, P.J.B. y Reynolds, J.D. (Ed.) Handbook of Fish Biology and Fisheries, Volume 1: Fish biology. Blackwell Publishing, Oxford, 428 p.
- Franco-Gordo, C., Godínez-Domínguez, E., Suárez-Morales, E. y Vásquez-Yeomans,
 L. 2003. Diversity of ichthyoplankton in the central Mexican Pacific: a seasonal survey. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 57: 111-121.
- Frankham, R., Ballow, J.O. y Briscoe, D.A. 2010. Introduction to conservation genetics. Second Edition. University Press, Cambridge, 618 p.

- Fu, Y.-X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics. 147: 915-925.
- Gaines, S.D., Gaylord, B., Gerber, L.R., Hastings, A. y Kinlan, B.P. 2007. Marine population connectivity: Connectivity places, the ecological consequences of dispersal in the sea. Oceanography. 20(3): 90-99.
- Galarza, J.A., Carreras-Carbonell, J., Macpherson, E., Pascual, M., Roques, S., Turner, G.F. y Rico, C. 2009. The influence of oceanographic fronts and earlylife-history traits on connectivity among litoral fish species. PNAS. 106(5): 1473-1478.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. y Hurst, G.D.D. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. Molecular Ecology. 18: 4541-4550.
- Garrick, R.C., Nason, J.O., Fernández-Manjarrés, J.F. y Dyer, R.J. 2013. Ecological coassociations influence species responses to past climate change: an example from a Sonora desert bark beetle. Molecular Ecology. 22: 3345-3361.
- Gilbert, F., Gonzalez, A. y Evans-Freke, I. 1998. Corridors maintain species richness in the fragmented landscapes of a microecosystem. Proc. R. Soc. Land. B. 265: 577-582.
- Gilliam, J.F. y Fraser, D.F. 2001. Movement in corridors: Enhancement by predation threat, disturbance, and habitat structure. Ecology. 82:258-273.
- Godínez, V.M., Beier, E., Lavín, M.F. y Kurczyn, J.A. 2010. Circulation at the entrance of the Gulf of California from satellite altimeter and hydrographic observations. Journal of Geophysical Research. 115, C04007, doi: 10.1029/2009JC005705.
- Goericke, R., Venrick, E., Koslow, T., Lara-Lara, J.R., Castro-Gaxiola, G., Weise,
 M.J., Sydeman, W.J., Valdez-Gómez, J., Harvey, J.T., Schwing, F.B., Bograd,
 S.J., Hyrenbach, K.D., Collins, C., Peterson, W.T., Emmett, R., Bradley, R.W. y

Lo, N.C.H. 2007. The state of the California current, 2006-2007: regional and local processes dominate. CalCOFI Rep. 48: 33-65.

- González-Valdez, V.L., Villa-Melchor, J.A., Mendoza-Cuenca, L. y Chassin-Noria, O. 2013. Identificación del sistema de apareamiento de Stegastes diencaeus: Un análisis con microsatélites. Biológicas. 15(2): 25-30.
- Gratwicke, B. y Speight, M.R. 2005. The relationship between fish species richness, abundance and habitat complexity in a range of shallow tropical marine habitats. Journal of Fish Biology. 66(3): 650-667.
- Grubisic, V., Smith, R.B. y Schär, C. 1995. The effect of bottom friction on shallowwater flow past an isolated obstacle. Journal of the Atmospheric Science. 52(11): 1985-2005.
- Guindon, S. y Gascuel, D. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Syst. Biol. 52: 696-704.
- Hajibabaei, M., Singer, G.A.C., Herbert, P.D.N. y Hickey, D.A. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. TRENDS in Genetics. 23(4): 167-172.
- Harpending, H.C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. Human Biology. 66(4): 591-600.
- Hedgecock, D., Barber, P.H. y Edmands, S. 2007. Marine population connectivity: Genetic approaches to measuring connectivity. Oceanography. 20(3): 70-79.
- Helenes, J. y Carreño, A.L. 1999. Neogene sedimentary evolution of Baja California in relation to regional tectonics. Journal of South American Earth Sciences. 12: 589-605.
- Hess, J.E., Vetter, R.D. y Moran, P. 2011. A steep genetic cline in yellowtail rockfish, Sebastes flavidus, suggests regional isolation across the Cape Mendocino faunal break. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 68: 89-104.

- Hoelzer, G.A. 1992. The ecology and evolution of partial-clutch cannibalism by parental Cortez damselfish. Oikos. 65. 113-120.
- Hugie, D.M. y Dill, L.M. 1994. Fish and game: A game theoretic approach to habitat selection by predators and prey. Journal of Fish Biology. 45(Supplement A): 151-169.
- Imbrie, J., Hay, J.D., Martinson, D.G., McIntyre, A., Mix, A.C., Morley, J.J., Paces, N.G., Prell, W.L. y Shackleton, N.J. 1984. The orbital theory of Pleistocene climate: support from a revised chronology of the marine δ¹⁸O record, 269-305. En: Berger *et al.* (Eds.) Milankovitch and Climate, Part I. D. Reidel, Norwell, Mass.
- Jacobs, D.K., Haney, T.A. y Louie, K. 2004. Genes, diversity and geologic process on the Pacific coast. Ann. Rev. Earth Planet. Sci. 32: 601-652.
- Jensen, J.L., Bohonak, A.J. y Killey, S.T. 2005. Isolation by distance, web service. BMC Genetics. 6: 13.
- Jones, D.L., Walter, J.F., Brooks, E.N. y Serafy, J.E. 2010. Connectivity through ontogeny: Fish population linkages among mangrove and coral reef habitats. Marine Ecology Progress Series. 401: 245-258.
- Jones, G.P., Srinivasan, M. y Almany, G.R. 2007. Marine population connectivity: population connectivity and conservation of marine biodiversity. Oceanography. 20(3): 100-111.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of bases substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution. 16: 111-120.
- Klug, H. 2007. Evolutionary significance of filial cannibalism in fishes with parental care. PhD thesis. University of Florida, Gainesville, pp. 67-76.

- Knudsen, B. y Miyamoto, M.M. 2009. Accurate and fast methods to estimate the population mutation rate from error prone sequences. BMC Bioinformatics. 10, doi: 10.1186/1471-2105-10-247.
- Koressaar, T. y Remm, M. 2007. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. Bioinformatics Applications Note. 23(10): 1289-1291.
- Kurczyn, J.A., Beier, E., Lavín, M.F. y Chaigneau, A. 2012. Mesoscale eddies in the northeastern Pacific tropical-Subtropical transition zone: statistical characterization from satellite altimetry. Journal of Geophysical Research. 117, C10021, doi: 10.1029/2012JC007970.
- Lavín, M.F. y Marinone, S.G. 2003. An overview of the physical oceanography of the Gulf of California, 173-204. En: Velasco-Fuentes, O.U., Sheinbaum, J. y Ochoa de la Torre, J.L. (eds.) Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands.
- Leis, J.M. 2007. Behaviour as imput for modelling dispersal of fish larvae: behavior, biogeography, hydrodynamics, ontogeny, physiology and phylogeny meet hydrography. Marine Ecology Progress Series. 347: 185-193.
- Librado, P. y Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis for DNA polymorphism data. Bioinformatics Applications Note. 25(11): 1451-1452.
- Lindell, J., Méndez-de la Cruz, F.R. y Murphy, R.W. 2005. Deep genealogical history without population differentation: discordance between mtDNA and allozyme divergence in the zebra-tailed lizard (*Callisaurus draconoides*). Molecular Phylogenetics and Evolution. 36: 682-694.
- Lindell, J., Ngo, A. y Murphy, R.W. 2006. Deep genealogies and the mid-peninsular seaway of Baja California. Journal of Biogeography. 33: 1327-1331.
- Lluch-Cota, S.E., Aragón-Noriega, E.A., Arreguín-Sánchez, F., Aurolies-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.,

Hernández-Vázquez, S., Herrera-Cervantes, H., Kahru, M., Lavin, M., Lluch-Belda, D., Lluch-Cota, D.B., López-Martínez, J., Marinone, S.G., Neudrez-Martínez, M.O., Ortega-García, S., Palacios-Castro, E., Pares-Sierra, A., Ponce-Díaz, G., Ramírez-Rodríguez, M., Salinas-Zavala, C.A., Schwartzlose, R.A. y Sierra-Beltrán, A.P. 2007. The Gulf of California: Review of ecosystem status and sustainability challenges. Progress in Oceanography. 73(1): 1-26.

- Lowe, W.H. y Allendorf, F.W. 2010. What can genetics tell us about population connectivity? Molecular Ecology. 19: 3038-3051.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research. 27(2): 209-220.
- Mapstone, G.M. y Wood, E.M. 1975. The ethology of *Abudefduf luridus* and *Chromis chromis* (Pisces, Pomacentridae) from the Azores. Journal of Zoology. 175: 179-199.
- Marinone, S.G. 2003. A three dimensional model of the mean and seasonal circulation of the Gulf of California. Journal of Geophysical Research. 108 (C10), 3325, doi: 10.1029/2002JCDO1720.
- Marinone, S.G. 2012. Seasonal surface connectivity in the Gulf of California. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 100: 133-141.
- Marinone, S.G., Ulloa, M.J., Parés-Sierra, A., Lavín, M.F. y Cudney-Bueno, R. 2008. Connectivity in the northern Gulf of California from particle tracking in a threedimensional numerical model. Journal of Marine Systems. 71: 149-158.
- Marko, P.B. 2004. 'What's larvae got to do with it?' Disparate patterns of post-glacial population structure in two benthic marine gastropods with identical dispersal potential. Molecular Ecology. 13: 597-611.
- Meekan, M.G., Ackerman, J.L. y Wellington, G.M. 2001. Demography and age structures of coral reef damselfishes in the tropical eastern Pacific Ocean. Marine Ecology Progress Series. 212: 223-232.

- Milicich, M.J. 1994. Dynamic coupling of reef fish replenishment and oceanographic processes. Marine Ecology Progress Series. 110: 135-144.
- Miller, P.A., Fitch, A.J., Gardner, M., Hutson, K.S. y Mair, G. 2011. Genetic population structure of Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi*) in temperate Australasian waters inferred from microsatellite markers and mitochondrial DNA. Aquaculture. 319 (3-4): 328-336.
- Moreno-Sánchez, X.G., Abitia-Cárdenas, L.A., Escobar-Sánchez, O. y Palacios-Salgado, D.S. 2011. Diet of the Cortez damselfish Stegastes rectifraenum (Teleostei: Pomacentridae) from the rocky reef at Los Frailes, Baja California Sur, Mexico. Marine Biodiversity Records. 4, sp.doi: 10.1017/S1755267211000996.
- Nason, J.D., Hamrick, J.L. y Fleming, T.H. 2002. Historical vicariance and postglacial colonization effects on the evolution of genetic structure in *Lophocereus*, a Sonoran desert columnar cactus. Evolution. 56(11): 2214-2226.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York, 512 p.
- Pearson, K. 1895. Notes of regression and inheritance in the case of two parents. Proceedings of the Royal Society of London. 58: 240-242.
- Peguero-Icaza, M., Sánchez-Velasco, L., Lavín, M.F. y Marinone, S.G. 2008. Larval fish assemblages, environment and circulation in a semienclosed sea (Gulf of California, Mexico). Estuarine, Coastal and Shelf Science. 79: 277-288.
- Peguero-Icaza, M., Sánchez-Velasco, L., Lavín, M.F., Marinone, S.G. y Beier, E. 2011. Seasonal changes in connectivity routes among larval fish assemblages in a semi-enclosed sea (Gulf of California). Journal of Plankton Research. 33(3): 517-533.
- Peng, S., Shi, Z., Hou, J., Wang, W., Zhao, F. y Zhang, H. 2009. Genetic diversity of Silver Pomfret (*Pampus argenteus*) populations from the China Sea based on

mitochondrial DNA control region sequences. Biochemical Systematics and Ecology. 37: 626-632.

- Petersen, C.W. y Marchetti, K. 1989. Filial cannibalism in the Cortez damselfish *Stegastes rectifraenum*. Evolution. 43(1): 158-168.
- Pineda, J., Hare, J.A. y Sponaugle, S. 2007. Marine population connectivity: Larval transport and dispersal in the coastal ocean and consequences for population connectivity. Oceanography. 20(3): 22-39.
- Posada, D. y Buckley, T.R. 2004. Model selection and model averaging in Phylogenetics: advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian approaches over Likelihood Ratio Tests. Syst. Biol. 53(5): 793-808.
- Pratchett, M.S., Wilson, S.K. y Baird, A.H. 2006. Declines in the abundance of Chaetodon butterfly fishes following extensive coral depletion. Journal of Fish Biology. 69: 1269-1280.
- Primmer, C.R., Borge, T., Lindell, J. y Saetre, G. P. 2002. Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in the aviam genome. Molecular Ecology. 11: 603-612.
- Ramos-Onsins, S.E. y Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. Mol. Biol. Evol. 19(12): 2092-2100.
- Rice, W.R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. Evolution. 43(1): 223-225.
- Riddle, B.R., Hafner, D.J., Alexander, L.F. y Jaeger, J.R. 2000. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California peninsular desert biota. PNAS. 97(26): 14438-14443.
- Roberts, C.M. 1997. Connectivity and management of Caribbean coral reefs. Science. 278: 1454-1457.

- Roberts, C.M., Andelma, S., Branch, G., Bustamante, R.H., Castilla, J.C., Dugan, J., Halpern, B.S., Lafferty, K.D., Leslie, H., Lubchenco, J., McArdle, D., Possingham, , H.P., Ruckelshaus, M. y Warner, R.R. 2003. Ecological criteria for evaluating candidate sites for marine reserves. Ecological Applications. 13(1): S199-S214.
- Rogers, A.R. 1995. Genetic evidence for a pleistocen population explosion. Evolution. 49(4): 608-615.
- Rogers, A.R. y Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. Mol. Biol. Evol. 9(3): 552-569.
- Rusnak, G.A., Fisher, R.L. y Shepard, F.P. 1964. Bathymetry and faults of Gulf of California. En: Van Andel, T.H. y Sho, G.G. (Eds.) Marine Geology of the Gulf of California. American Association of Petroleum Geologists Memoir. 3: 59-75.
- Saitou, N. y Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4(4): 406-425.
- Sala, E., Aburto-Oropeza, O., Paredes, G., Parra, I., Barrera, J.C. y Dayton, P.K. 2002. A general model for designing networks of Marine Reserves. Science. 298: 1991-1993.
- Sale, P.F. 1978. Coexistence of coral reef fishes-a lottery for living space. Env. Biol. Fish. 3(1): 85-102.
- Sale, P.F. 2004. Connectivity, recruitment variation, and the structure of reef fish communities. Integr. Comp. Biol. 44: 390-399.
- Sánchez-Velasco, L., Jiménez-Rosenberg, S.P.A., Shirasago, B. y Obeso-Nieblas, M. 2004. Distribution and abundance of fish larvae in Bahía de La Paz (Gulf of California) and their relation to hydrographic variability during summer (1997-1998). Deep-Sea Research II. 51: 723-737.
- Sánchez-Velasco, L., Lavín, M.F., Peguero-Icaza, M., León-Chávez, C.A., Contreras-Catala, F., Marinone, S.G., Gutiérrez-Palacios, I.V. y Godínez, V.M. 2009.

Seasonal changes in larval fish assemblages in a semi-enclosed sea (Gulf of California). Continental Shelf Research. 29: 1697-1710.

- Selkoe, K.A. y Toonen, R.J. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecology Letters. 9: 615-629.
- Shanks, A.L., Grantham, B.A. y Carr, M.H. 2003. Propagule dispersal distance and the size and spacing of marine reserves. Ecological Applications. 13(1): S159-S169.
- Siegel, D.A., Mitarai, S., Costello, C.J., Gaines, S.D., Kendall, B.E., Warner, R.R. y Winters, K.B. 2008. The stochastic nature of larval connectivity among nearshore marine populations. PNAS. 105(26): 8974-8979.
- Sigwart, J. 2009. Coalescent theory: an introduction. Syst. Biol. 58(1): 162-165.
- Smith, J.T. 1984. Miocene and Pliocene marine mollusks and preliminary correlations, Vizcaino Peninsula to Arroyo La Purisma, Northwestern Baja California Sur, Mexico geology of the Baja California Peninsula, 197-217. En: Frizzell Jr, V.A. (Ed.) Pacific Section, Society of Economic Paleontologists and Mineralogists. Los Angeles, CA.
- Smith, J.T. 1991. Cenozoic marine mollusks and paleogeography of the Gulf of California. The Gulf and Peninsular province of the Californias, Memoir 47, 637-666. En: Dauphin, J.P. y Simoneit, B.R.T. (Ed.) American Association of Petroleum Geologists. Tulsa, OK.
- Sobel, J. y Dahlgren, C. 2004. Marine Reserves: A guide to science design, and use. Island Press, 383 p.
- Sponaugle, S., Lee, T., Kourafalou, V. y Pinkard, D. 2005. Florida current frontal eddies and the settlement of coral reef fishes. Limnol. Oceanogr. 50(4): 1033-1048.

- Stelkens, R. y Seehausen, O. 2009. Genetic distance between species predicts novel trait expression in their hybrids. Evolution. doi: 10.1111/j.1558-5646-2008.00599.x.
- Stelkens, R.B., Schmid, C., Selz, O. y Seehausen, O. 2009. Phenotypic novelty in experimental hybrids is predicted by the genetic distance between species of cichlid fish. BMC Evolutionary Biology. 9:283.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics. 123: 585-595.
- Tamura, K. y Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Mol. Biol. Evol. 10(3): 512-526.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. y Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Biol. Evol. 28(10): 2731-2739.
- Terry, A., Bucciarelli, G. y Bernardi, G. 2000. Restricted gene flow and incipient speciation in disjunct Pacific Ocean and Sea of Cortez populations of a reef fish species, *Girella nigricans*. Evolution. 54(2): 652-659.
- Thompson, J.D., Higgings, D.G. y Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research. 22(22): 4673-4680.
- Thorrold, S.R., Jones, G.P., Hellberg, M.E., Burton, R.S., Swearer, S.E., Neigel, J.E., Morgan, S.G. y Warner, R.R. 2002. Quantifying larval retention and connectivity in marine populations with artificial and natural markers. Bulletin of Marine Science. 70(1) Suppl.: 291-308.

- Toffoli, D., Hrbek, T., Góes de Araújo, M.L., Pinto de Almeida, M., Charvet-Almeida,
 P. y Farias, P.I. 2008. A test of the utility of DNA barcoding in the radiation of the freshwater stingray genus *Potamotrygon* (Potamotrygonidae, Myliobatiformes). Genetics and Molecular Biology. 31(1) Suppl : 324-336.
- Tsukagoshi, H., Yokogama, R. y Goto, A. 2011. Mitochondrial DNA analysis reveals a unique population structure of the amphidromous sculpin *Cottus pollux* middle-egg type (Teleostei: Cottidae). Molecular Phylogenetics and Evolution. 60: 265-270.
- Turner, A.M. y Mittelbach, G.G. 1990. Predator avoidance and community structure: Interactions among piscivores, planktivores, and plankton. Ecology. 71(6): 2241-2254.
- Umhoefer, P.J. 2011. Why did the southern Gulf of California rupture so rapidly?-Oblique divergence across hot, weak lithosphere along a tectonically active margin. GSA Today. 21(11), doi: 10.1130/G133A.1.
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, J.Y., Ye, J., Faircloth, B.C., Remm, M. y Rozen, S.G. 2012. Primer3-new capabilities and interfaces. Nucleic Acids Research. 40(15), doi: 10.1093/nar/gks596.
- Upton, D.E. y Murphy, R.W. 1997. Phylogeny of the Side-Blotched lizards (Phrynosomatidae: Uta) based on mtDNA sequences: support for a midpeninsular seaway in Baja California. Molecular Phylogenetics and Evolution. 8(1): 104-113.
- Valentine, J.W. y Jablonski, D. 1991. Biotic effects of sea level change: the Pleistocene test. Journal of Geophysical Research. 96(B4): 6873-6878.
- Victor, B.C. y Wellington, G.M. 2000. Endemism and the pelagic larval duration of reef fishes in the eastern Pacific Ocean. Marine Ecology Progress Series. 205: 241-248.

- Villegas-Sánchez, C.A., Abitia-Cárdenas, L.A., Gutiérrez-Sánchez, F.J. y Galván-Magaña, F. 2009. Rocky-reef fish assemblages of San José Island, México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 80(1): 169-179.
- Von der Heyden, S., Lipinski, M.R. y Matthee, C.A. 2010. Remarkably low mtDNA control region diversity in an abundant demersal fish. Molecular Phylogenetics and Evolution. 55: 1183-1188.
- Walker, B.K., Jordon, L.K.B. y Spieler, R.E. 2009. Relationship of reef fish assemblages and topographic complexity on southeastern Florida coral reef habitats. Journal of Coastal Research. SI(53): 39-48.
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R. y Hebert, P.D.N. 2005. DNA barcoding Australian's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society B. 360: 1847-1857.
- Webb, P.W. 1994. The biology of fish swimming, 45-62. En: Maddock, L., Bone, Q. y Rayner, J.M.V. (Ed.) Mechanics and physiology of animal swimming.Cambridge University Press, Science, 250 p.
- Weir, B. 1999. Genetic data analysis II. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Wilkinson, T., Wiken, E., Creel, J.B., Hourigan, T., Ayardy, T., Hermann, H., Janisheuski, L., Madden, C., Morgan, L. y Padilla, M. 2009. Ecorregiones Marinas de América del Norte. Comisión para la Cooperación Ambiental, Montreal. 200 p.
- Williams, D.M. y Hatcher, A.I. 1983. Structure of fish communities on outer slopes of inshore, mid-shelf and outer-shelf reefs of the Great Barrier Reef. Marine Ecology Progress Series. 10: 239-250.
- Wright, L.D., Roberts, H.H., Coleman, J.M., Kupfer, R.L. y Bowden, L.W. 1973.
 Process-form variability of multiclass coasts: Baja California. Technical Report No. 137. 64p.

Anexo 1:

Diferencias nucleotídicas de COI entre las especies del género Stegastes, Stegastes rectifraenum y Stegastes flavilatus.

Diferencias nucleotídicas del ADN mitocondrial, Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI), entre las especie *Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus*. Las muestras de los sitios Bahía Concepción (BC), Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía Magdalena (BM) corresponden a la especie *Stegastes rectifraenum*. Las muestras del sitio Ixtapa-Zihuatanejo (IZ) corresponden a la especie *Stegastes flavilatus*. 58 sitios diferentes de 526.

														Ро	sic	iór	1												
										1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
	2	2	3	3	5	6	6	7	8	0	2	3	3	4	4	5	6	6	7	7	7	9	1	1	2	4	5	6	7
	3	6	2	5	3	5	8	4	0	4	2	4	7	0	6	8	7	8	3	6	9	4	2	8	1	2	1	0	2
	А	А	G	Т	G	Α	G	G	С	С	С	А	С	Т	А	С	А	G	Т	С	А	С	С	А	Т	Т	С	А	А
Stegastes																													
rectifraenum																													
Stegastes	G	G	А	С	А	G	А	А	А	т	т	С	т	С	G	А	G	т	G	т	G	т	т	С	С	С	т	G	G
flavilatus	G	G	А	С	А	G	А	А	А	т	т	С	т	С	G	А	G	Т	G	т	G	т	Т	С	С	С	Т	G	G

	Posición																												
	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5
	8	9	0	1	2	5	5	6	6	7	7	8	9	0	1	2	2	3	4	4	5	6	6	7	7	8	9	9	1
	4	6	8	4	3	3	6	2	5	4	5	9	2	1	3	2	8	7	0	3	5	1	4	0	6	2	4	7	2
Stegastes	Т	Т	С	С	А	Т	С	С	С	А	С	С	А	Т	А	С	С	Т	А	Т	G	Т	С	Т	А	G	С	Т	Т
										•					·	•					•	·							
		·			•										·					•		·			•	·			
				•		•				•					·	•						·				•	•		•
rectifraenum		•		•	•					·		·			•	·				•	·	•			•	•	•		
	•	·		•	•	•			·	•		•	•		·	•		•	•	•	•	·	•	·	•	·	•	•	•
	•	•	•	•	•	•	•	•	•	·	•	•	•	•	•	·	•		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
		•	•	•	•	•	•	•	•			•					•			•				•	•	•	•		
Stegastes	С	С	Т	Т	G	С	Т	Т	Т	Т	Т	G	G	С	Т	Т	Т	С	С	А	А	С	G	С	Т	А	А	С	С
flavilatus	С	С	Т	Т	G	С	Т	Т	Т	Т	Т	G	G	С	Т	Т	Т	С	С	А	А	С	А	С	Т	А	А	С	С

Anexo 2:

Frecuencias haplotípicas de la región control en Stegastes rectifraenum.

Descripción de los 113 haplotipos de Stegastes rectifraenum colectados en las 7 localidades, Los Frailes (LF), Ensenada de Muertos (EdM), Isla San José (ISJ), Isla Espíritu Santo (IES), Bahía Concepción (BC), Bahía de Los Ángeles (BLA) y Bahía Magdalena (BM).

Haplotípo	LF (17)	EdM (13)	ISJ (14)	IES (9)	BC (32)	BLA (23)	BM (29)
Hap 1	2	1	0	0	0	0	0
hap 2	1	0	0	0	0	0	0
hap 3	1	0	0	0	0	0	0
Hap 4	1	1	1	0	0	0	0
Hap 5	1	0	0	0	0	0	0
Hap 6	1	0	0	0	0	0	0
Hap 7	1	0	0	0	0	0	0
Hap 8	1	0	0	0	0	0	0
Hap 9	1	0	1	0	0	0	0
Hap 10	1	0	0	0	0	0	0
Hap 11	1	0	0	0	0	0	0
Hap 12	1	0	0	0	0	0	0
Hap 13	1	0	0	0	0	0	0
Hap 14	1	0	0	0	0	0	0
Hap 15	1	0	0	1	0	0	0
Hap 16	1	0	0	0	0	0	0
Hap 17	0	1	0	0	0	0	0
Hap 18	0	1	0	0	0	0	0
Hap 19	0	1	0	0	0	0	0
Hap 20	0	1	0	0	0	0	0
Hap 21	0	1	1	1	0	0	0
Hap 22	0	1	0	0	0	0	0
Hap 23	0	1	1	0	0	0	0
Hap 24	0	1	0	0	0	0	0
Hap 25	0	1	0	0	0	0	0
Hap 26	0	1	0	0	0	0	0
Hap 27	0	1	0	0	0	0	0
Hap 28	0	0	1	0	0	0	0
Hap 29	0	0	1	0	0	0	0
Hap 30	0	0	1	0	0	0	0
Hap 31	0	0	1	0	0	0	0
Hap 32	0	0	1	0	0	0	0
Hap 33	0	0	1	0	0	0	0
Hap 34	0	0	1	0	0	0	0

Hap 35	0	0	1	0	0	0	0
Нар 36	0	0	1	0	0	0	0
Нар 37	0	0	1	0	0	0	0
Hap 38	0	0	0	1	0	0	0
Hap 39	0	0	0	1	0	0	0
Hap 40	0	0	0	1	0	0	0
Hap 41	0	0	0	1	0	0	0
Hap 42	0	0	0	1	0	0	0
Hap 43	0	0	0	1	0	0	0
Hap 44	0	0	0	1	0	0	0
Hap 45	0	0	0	0	1	0	0
Hap 46	0	0	0	0	1	0	0
Hap 47	0	0	0	0	1	0	0
Hap 48	0	0	0	0	1	1	0
Hap 49	0	0	0	0	2	0	1
Hap 50	0	0	0	0	2	0	0
Hap 51	0	0	0	0	1	0	0
Hap 52	0	0	0	0	1	0	0
Hap 53	0	0	0	0	1	0	0
Hap 54	0	0	0	0	1	0	0
Hap 55	0	0	0	0	1	0	0
Hap 56	0	0	0	0	1	0	0
Hap 57	0	0	0	0	1	0	1
Hap 58	0	0	0	0	1	0	0
Hap 59	0	0	0	0	1	0	0
Hap 60	0	0	0	0	1	0	0
Hap 61	0	0	0	0	1	0	0
Hap 62	0	0	0	0	1	0	0
Hap 63	0	0	0	0	1	0	0
Hap 64	0	0	0	0	2	1	0
Hap 65	0	0	0	0	1	1	1
Hap 66	0	0	0	0	1	1	1
Hap 67	0	0	0	0	1	0	0
Hap 68	0	0	0	0	1	0	0
Hap 69	0	0	0	0	1	0	0
Hap 70	0	0	0	0	1	0	0
Hap 71	0	0	0	0	1	0	0
Hap 72	0	0	0	0	1	0	0
Hap 73	0	0	0	0	1	0	1
Hap 74	0	0	0	0	0	1	0
Hap 75	0	0	0	0	0	1	0
Hap 76	0	0	0	0	0	1	0
Нар 77	0	0	0	0	0	1	0

Han 78	0	0	0	0	0	1	0
Hap 79	0	0	0	0	0	1	0
Hap 80	0	0	0	0	0	1	0
Hap 81	0	0	0	0	0	1	0
Hap 82	0	0	0	0	0	1	0
Hap 83	0	0	0	0	0	1	2
Hap 84	0	0	0	0	0	1	0
Hap 85	0	0	0	0	0	1	0
Hap 86	0	0	0	0	0	1	0
Hap 87	0	0	0	0	0	1	0
Hap 88	0	0	0	0	0	1	0
Hap 89	0	0	0	0	0	1	0
Hap 90	0	0	0	0	0	1	0
Hap 91	0	0	0	0	0	1	0
Hap 92	0	0	0	0	0	1	0
Hap 93	0	0	0	0	0	0	1
Hap 94	0	0	0	0	0	0	1
Hap 95	0	0	0	0	0	0	1
Hap 96	0	0	0	0	0	0	1
Hap 97	0	0	0	0	0	0	1
Hap 98	0	0	0	0	0	0	1
Hap 99	0	0	0	0	0	0	2
Hap 100	0	0	0	0	0	0	1
Hap 101	0	0	0	0	0	0	1
Hap 102	0	0	0	0	0	0	1
Hap 103	0	0	0	0	0	0	1
Hap 104	0	0	0	0	0	0	1
Hap 105	0	0	0	0	0	0	1
Hap 106	0	0	0	0	0	0	1
Hap 107	0	0	0	0	0	0	1
Hap 108	0	0	0	0	0	0	1
Hap 109	0	0	0	0	0	0	1
Hap 110	0	0	0	0	0	0	1
Hap 111	0	0	0	0	0	0	1
Hap 112	0	0	0	0	0	0	1
Hap 113	0	0	0	0	0	0	1

Anexo 3:

Ilustraciones de las especies del género *Stegastes, Stegastes rectifraenum* y *Stegastes flavilatus*. Las fotos fueron obtenidas de la página <u>http://biogeodb.stri.si.edu/sftep/taxon.php</u> y el crédito de ellas es de Gerald Allen. Mapa de la distribución geográfica de *Stegastes flavilatus*. Mapa tomado de <u>http://www.iucnredlist.org</u>.

Stegastes rectifraenum (Gill, 1862)





Adulto



Stegastes flavilatus (Gill, 1862)





Juvenil

