

CICIMAR-IPN

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

# CONECTIVIDAD GENÉTICA DE Lutjanus peru Y L. argentiventris EN EL PACÍFICO ORIENTAL TROPICAL

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS MARINAS

PRESENTA

NICOLE REGUERA ROUZAUD

La Paz, Baja California Sur, enero del 2022



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciuda	d de	La Paz, B.C.	S.,	siendo las	12:00	horas del día	07	del mes de	Diciembre	
del 2021	se r	eunieron lo	s <u>miemb</u> i	os de la Co	misión	Revisora de la	<u>Tes</u> i	s, designad	a por el Colegio	de
Profesores (	Profesores de Posgrado de: CENTRO INTERNDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS para examinar la tesis titulada:							ida:		
"CONECTIVI	IDAD	GENÉTICA DE	Lutjanus	s peru Y L. arg	entiven	<i>tris</i> EN EL PACÍF		RIENTAL	del (la) alumno	o (a):
TROPICAL""										
Apellido Paterno:		REGUER		Apellido Materno:		ROUZAUD		Nombre (s):	NICOLE	
Apellido Paterno: Número de	regis	REGUER/	A   1   4	Apellido Materno: 3 0 5 4	6	ROUZAUD	I	Nombre (s):	NICOLE	: 

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene \_\_4\_\_\_% de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado**.

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo SI NO SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.

### JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:

El % de similitud se localizó en la referencia de la publicación, producto de esta tesis

\*\*Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.

Finalmente y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron APROBAR SUSPENDER NO APROBAR la tesis por UNANIMIDAD o MAYORÍA en virtud de los motivos siguientes:

"SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOCISIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES"

### **COMISIÓN REVISORA DE TESIS**

DR. NOÉ DIAZ VILORIA Director de Tesis Nombre completo y firma

Adurín Munguía Vega

DR. ADRIAN MUNGUIA VEGA Director de Tesis Nombre completo y firma

DRA. LAURA SÁNCHEZ VELASCO Nombre completo y firma

DR. GUILLERMO MARTÍNEZ FLORES Nombre completo y firma

DR. RICARDO PEREZ ENRIQUEZ Nombre completo y firma

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO Nombre completo y firma PRESIDENTE DEL COLEGIO 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 <u>0</u>	7	del mes de	Diciembre	del año	2021
El (la) que suscribe	• <u>Me</u>	n C. NICOLE I	REGUI	ERA ROUZAUD	Alu	umno (a) del	l Programa
	DOC	TORADO EN	I CIEN	CIAS MARINAS			
con número de regi	istro <u>A18054</u>	<u>6</u> adscrito	al	CENTRO INTERI	DISCIPLINARIO	DE CIENCIAS N	MARINAS
manifiesta que es a	manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:						
DR. NOÉ DÍAZ VILORIA y DR. ADRIÁN MUNGUÍA VEGA							
y cede los derechos del trabajo titulado:							
"CONECTIVIDAD GENÉTICA DE Lutjanus peru Y L. argentiventris EN EL PACÍFICO ORIENTAL TROPICAL"							

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>nreguerar1500@alumno.ipn.mx - ndiaz@ipn.mx -</u> Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del

mismo.

Nicole R.

M en C. NICOLE REGUERA ROUZAUD

# turnitin

Tesis\_RegueraRouzaud.pdf 6 dic 2021 35098 palabras/177040 caracteres

Dr. Mario Alberto Castillo Soria

# $Tesis\_RegueraRouzaud.pdf$

Resumen de fuentes



#### SIMILITUD GENERAL

1	Nicole Reguera-Rouzaud, Noé Díaz-Viloria, Ricardo Pérez-Enríquez, Elaine Espino-Barr et al. "Drivers for genetic structure at different geographic scales for Pacific red snapper () and yel CROSSREF	<sup>I</sup> 2%
2	www.repositoriodigital.ipn.mx INTERNET	<1%
3	tesis.ipn.mx INTERNET	<1%
4	www.redalyc.org	<1%
5	cybertesis.unmsm.edu.pe INTERNET	<1%
6	es.slideshare.net	<1%
7	itzamna.bnct.ipn.mx:8080 INTERNET	<1%
8	isla.org.mx INTERNET	<1%
9	hortintl.cals.ncsu.edu INTERNET	<1%
10	rmf.smf.org.mx INTERNET	<1%
11	repositorio.usfq.edu.ec	<1%
12	www.nature.com INTERNET	<1%
13	repositoriodigital.ipn.mx INTERNET	<1%
14	www.pronatura-nmc.org	<1%
15	doczz.net INTERNET	<1%
16	repositorio.puce.edu.ec	<1%



18	www.conabio.gob.mx	<1%
19	Nicole Reguera-Rouzaud, Noé Díaz-Viloria, Ricardo Pérez-Enríquez, Elaine Espino-Barr et al. " Drivers for genetic structure at different geographic scales for Pacific red snapper () and y CROSSREF	<1%
20	creativecommons.org	<1%
21	dspace.uah.es INTERNET	<1%
22	opac.pucv.cl INTERNET	<1%
23	Cristina Jasso-del Toro, Laura Márquez-Valdelamar, Ricardo Mondragón-Ceballos. "Diversidad genética en grupos de monos aulladores de manto (Alouatta palliata mexicana) en la Res CROSSREF	<1%

<1%

24	bvs.sld.cu INTERNET	<1%
25	docplayer.es INTERNET	<1%
26	hdl.handle.net INTERNET	<1%
27	www.researchgate.net	<1%
28	Juan Pablo Muñoz-Pérez, Sofía Tacle. "Memorias del 1er Simposio de Investigación & Conservación Galápagos GSC-DPNG / 1st Galapagos Conservation & Research Symposium GSC CROSSREF	<1%
29	aprenderly.com INTERNET	<1%
30	bdigital.unal.edu.co	<1%
31	coaps.fsu.edu INTERNET	<1%
32	sustainableyellowstone.org	<1%
33	www.avocadosource.com	<1%
34	www.cicese.edu.mx	<1%
35	www.pgrweb.go.cr	<1%
36	www.sabiia.cnptia.embrapa.br	<1%

#### Se excluyeron los depósitos de búsqueda:

Ninguno

#### Excluido del Informe de Similitud:

Bibliografía

Citas textuales

Citas

Coincidencias menores (10 palabras o menos)

#### Se excluyeron las fuentes:

Ninguno

# Dedicatoria

A mi familia

# Agradecimientos

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo otorgado durante el doctorado

Al comité tutorial conformado por los doctores Noé Díaz Viloria, Adrián Munguía Vega, Guillermo Martínez Flores, Ricardo Pérez Enríquez y Laura Sánchez Velasco; por apoyarme y darme las herramientas necesarias a lo largo del todo el doctorado.

Al proyecto CONACyT 257019. Conectividad larvaria del huachinango (*Lutjanus peru*) en el Sur del Golfo de California.

A la Dra. Diana Cecilia Escobedo Urías de CIDIIR-Guasave, por proveernos hospedaje y transporte durante el muestreo en Sinaloa. A la Dra. Elaine Espino-Barr, Dr. Deivis Samuel Palacios Salgado, Dra. Ana María Millán (Universidad del Valle, Colombia), J.A. Clarós y Mailin Rivera (Universidad Marítima Internacional de Panamá, Panamá), Vicente Hernández (CRIP-Mazatlán), Marco Antonio Porchas Cornejo, Oswaldo Morales Pacheco (CRIP-Salina Cruz), Armando Hernández López y Elías Montaño por la facilitación de las muestras utilizadas en este trabajo de investigación.

A los pescadores y a las cooperativas pesqueras: Horacio Fierro, San Carlos, La Salina y Mariscos Baja Sur, por proveernos apoyo durante el muestreo.

# Tabla de contenido

Índice de	e figurasI
Índice de	e tablasVI
Índice de	e anexos
Glosario	IX
Resume	۲XII
Abstract	
1.	Introducción1
2.	Hipótesis5
3.	Objetivo5
3.1.	Objetivos específicos5
4. Materi	ales y métodos6
4.1. Ár	ea de estudio6
4.2. M	Jestreo
4.3. Ma	arcadores microsatelitales10
4.3.1	. Extracción y estandarización de ADN10
4.3.2	2. Amplificación de microsatélites y lectura de genotipos
4.3.3	3. Análisis de diversidad y estructura genética para microsatélites 11
4.4. Di	stribución de hábitat y modelación de nicho ecológico
4.5. Es Hybrid	stimación de la conectividad basado en el modelo de circulación oceánico Coordinate Ocean Model (HYCOM)16
4.5.1	. Diseño del modelo 16
4.5.2	2. Escenarios de simulación19
4.5.3	3. Post-procesamiento de datos y análisis24
4.6. Bú secuer (ddRA	usqueda e identificación de polimorfismos de una base (SNP´s) mediante el nciado de ADN asociado a la doble digestión de enzimas de restricción Dseq)25
4.6.1	. Calidad y cantidad de ADN genómico
4.6.2	2. Doble digestión
4.6.3	B. Ligación de adaptadores26
4.6.4	l. Selección de tamaño28
4.6.5	5. Incorporación de index

5. Re	sultados
5.1	. Microsatélites
5	5.1.1. Diversidad genética
5	5.1.2. Estructura genética poblacional
5.2	. Distribución de hábitat y modelación de nicho ecológico
5.3. oce	. Estimación de la conectividad basado en el modelo de circulación eánica HYCOM
5	5.3.1. Circulación oceánica
5	5.3.2. Primer escenario – coordenadas de los registros de ocurrencias 52
5	5.3.3. Segundo escenario - distribución continua (centroides polígonos) 66
5	5.3.4. Tercer escenario - temporada reproductiva
5.4.	Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP´s)81
5	.4.1. Control de calidad de la librería81
6.	Discusión
6.1	. Simulación de transporte larval
6.2	. Escala espacial
6	5.2.1. Estructura genética a gran escala
6	5.2.2. Estructura genética a escala local
7.	Conclusiones
8.	Literatura citada93
9.	Anexos

## Índice de figuras

- **FIGURA 15.** DISTRIBUCIÓN DE ARRECIFE ROCOSO ACOTADO A LA ISÓBATA DE 100 M PARA *L. PERU*. A) PARCHES DE ARRECIFE QUE ESTÁN CONECTADOS POR UNA DISTANCIA MÁXIMA DE 150 KM; LAS LÍNEAS DE COLORES EN ESTE PANEL REPRESENTAN LOS DIFERENTES PARCHES HÁBITAT ROCOSO Y B) DISTRIBUCIÓN DE LOS ARRECIFES ROCOSOS ACOTADO A 100 M. .. 42
- **FIGURA 16.** DISTRIBUCIÓN DE HÁBITAT DE FONDO BLANDO ACOTADO A LA ISÓBATA DE 100 M PARA *L. PERU.* A) PARCHES DE FONDO BLANDO QUE ESTÁN CONECTADOS POR UNA DISTANCIA MÁXIMA DE 150 KM; LAS LÍNEAS DE COLORES EN ESTE PANEL REPRESENTAN DIFERENTES PARCHES DE FONDO BLANDO Y B) DISTRIBUCIÓN DEL FONDO BLANDO ACOTADO A 100 M. 43

**FIGURA 27.** REDES FORMADAS PARA *LUTJANUS PERU* PRESENTES INVIERNO (A - C), PRIMAVERA (D - F), VERANO (G – I) Y OTOÑO (J- L) PARA UN PERIODO DE 30 DÍAS DE DERIVA LARVAL. LOS PUNTOS ROJOS SON LOS CENTROIDES, LAS LÍNEAS DE COLORES REPRESENTAN LAS REDES FORMADAS Y EL GROSOR REPRESENTA EL PORCENTAJE DE CONEXIÓN ENTRE POLÍGONOS. 

- FIGURA 34. REDES FORMADAS CON LOS CENTROIDES (PUNTOS ROJOS) EN INVIERNO (A C), PRIMAVERA (D - F), VERANO (G - I) Y OTOÑO (J- L) DURANTE UN PERIODO DE 15 DÍAS DE

DERIVA LARVAL. LAS LÍNEAS DE COLORES REPRESENTAN LAS REDES FORMADAS Y EL GROSOR REPRESENTA EL PORCENTAJE DE CONEXIÓN ENTRE POLÍGONOS. LAS LÍNEAS DE COLORES GRUESAS EN MAR ABIERTO EN LA ZONA B y C son la longitud de las redes.

- FIGURA 35. REDES FORMADAS CON LOS CENTROIDES (PUNTOS ROJOS) EN INVIERNO (A C), PRIMAVERA (D - F), VERANO (G – I) Y OTOÑO (J- L) DURANTE UN PERIODO DE 30 DÍAS DE DERIVA LARVAL. LAS LÍNEAS DE COLORES REPRESENTAN LAS REDES FORMADAS Y EL GROSOR REPRESENTA EL PORCENTAJE DE CONEXIÓN ENTRE POLÍGONOS. LAS LÍNEAS DE COLORES GRUESAS EN MAR ABIERTO EN LA ZONA B Y C SON LA LONGITUD DE LAS REDES72

### Índice de tablas

- TABLA 2. TEMPORADA REPRODUCTIVA DE LUTJANUS PERU Y L. ARGENTIVENTRIS A LO LARGO DE SU RANGO DE DISTRIBUCIÓN. NAYARIT (NAY), JALISCO (JAL), COLIMA (CMA), REVILLAGIGEDO (REV), MICHOACÁN (MIC), GUERRERO (GUE), CHIAPAS (CHI), PACÍFICO (PAC), GOLFO DE CALIFORNIA-PENÍNSULA (GC-PEN), GOLFO DE CALIFORNIA-CONTINENTE (GC-CON), EL SALVADOR (ES), NICARAGUA (NIC), COSTA RICA (CR), PANAMÁ (PAN) Y COLOMBIA (COL). 24
- TABLA 3. PROMEDIO DE DIVERSIDAD GENÉTICA PARA CADA POBLACIÓN CON 13 MICROSATÉLITES PARA LUTJANUS PERU. TAMAÑO DE MUESTRA (N), NÚMERO DE ALELOS (NA), NÚMERO DE ALELOS EFECTIVOS (NAF), NÚMERO DE ALELOS PRIVADO (PA), HETEROCIGOCIDAD OBSERVADA (HO) Y ESPERADA (HE). LA DIVERSIDAD GLOBAL TOMA EN CUENTA TODAS LAS LOCALIDADES COMO UNA SOLA POBLACIÓN. CAA = CONQUISTA AGRARIA, SBO = SAN BRUNO, LTO = LORETO, IES = ISLA ESPÍRITU SANTO, GUA = GUAYMAS, TOP = TOPOLOBAMPO, NAY = NAYARIT, OAX = OAXACA, PAN= PANAMÁ Y COL = COLOMBIA. 30

- TABLA 9. PUNTAJE DE CALIDAD Y PRECISIÓN DEL LLAMADO DE LAS BASES.
   81
- TABLA 10. RESUMEN DE LA CALIDAD DE LOS DATOS.
   83

# Índice de anexos

ANEXO 1. PURIFICACIÓN CON PERLAS
ANEXO 2. HIBRIDACIÓN DE ADAPTADORES Y SOLUCIÓN DE TRABAJO 104
ANEXO 3. TABLA DE PRUEBAS DE AMOVA JERÁRQUICO PARA LUTJANUS PERU CON 13
MICROSATÉLITES. CONQUISTA AGRARIA (CAA), SAN BRUNO (SBO), LORETO (LTO), ISLA
ESPÍRITU SANTO (IES), GUAYMAS (GUA), TOPOLOBAMPO (TOP), NAYARIT (NAY), OAXACA
(OAX), PANAMÁ (PAN) Y COLOMBIA (COL)
ANEXO 4. TABLA DE PRUEBAS DE AMOVA JERÁRQUICO PARA LUTJANUS ARGENTIVENTRIS CON
11 MICROSATÉLITES. SAN BRUNO (SBO), ISLA ESPÍRITU SANTO (IES), ALTATA (ALT),
COLIMA (CMA) Y PANAMÁ (PAN) 108
ANEXO 5. DIVERSIDAD GENÉTICA DE LUTJANUS PERU POR POBLACIÓN. TAMAÑO DE MUESTRA
(N), NÚMERO DE ALELOS (NA), NÚMERO DE ALELOS EFECTIVOS (NA), HETEROCIGOCIDAD
OBSERVADA (HO) Y ESPERADA (HE), EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG (P), FRECUENCIA DE
ALELOS NULOS (NAF) Y EL MARCADOR FLUORESCENTE (DYE). CAA = CONQUISTA AGRARIA,
SBO = SAN BRUNO, LTO = LORETO, IES = ISLA ESPÍRITU SANTO, GUA = GUAYMAS, TOP
= TOPOLOBAMPO, NAY = NAYARIT, OAX = OAXACA, PAN= PANAMA AND $COL = COLOMBIA$ .
ANEXO 6. DIVERSIDAD GENÉTICA DE LUTJANUS ARGENTIVENTRIS POR POBLACIÓN. TAMAÑO DE
MUESTRA (N), NÚMERO DE ALELOS (NA), NÚMERO DE ALELOS EFECTIVOS (NA),
HETEROCIGOCIDAD OBSERVADA (HO) Y ESPERADA (HE), EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG
(P), FRECUENCIA DE ALELOS NULOS (NAF) Y EL MARCADOR FLUORESCENTE (DYE). SBO =
SAN BRUNO, ESI = ISLA ESPÍRITU SANTO, ALT = ALTATA, CMA = COLIMA AND PAN =

## Glosario

Adaptador: producto total o parcialmente bicatenario de hibridación de dos oligonucleótidos. Los adaptadores están ligados al ADN genómico en los sitios de corte de las enzimas de restricción para agregar los códigos de barra y secuencias de cebadores comunes.

Alelo: una forma particular de un gen.

Alelos privados son alelos que solo se presentan en una determinada población.

Alelos nulos: son alelos presentes en el ADN, pero no son amplificados debido a variaciones en la secuencia o mutaciones en las regiones que reconocen los cebadores de los marcadores genéticos, estos cambios generan una falla en la amplificación de uno o ambos alelos presentes en un locus particular.

**Barcode o código de barras:** Secuencia corta de ADN debajo de la región de hibridación del cebador de secuenciación de un adaptador. Se utiliza para identificar a los individuos que vayan a ser secuenciados.

Centroide: centro geométrico de una figura.

**Conectividad genética**: intercambio de genes que influyen en la estructura genética de las poblaciones.

**Dispersión:** proporción de partículas que salen de un área determinada y llegan a otra.

**Diversidad alélica:** medida de la diversidad genética, calculada como el promedio del número de alelos por locus.

**Ecuación diferencial:** Es aquella que involucra derivadas (o diferenciales) de una función desconocida de una (ecuación diferencial ordinaria) o más variables (ecuación diferencial parcial).

**Ecuación primitiva:** expresión equivalente a la ecuación diferencial que carece de derivadas.

**Equilibrio de Hardy-Weinberg:** proporción predecible de las frecuencias genotípicas en una población sexualmente reproductora de tamaño infinito, con reproducción azarosa, sin mutación ni selección; representada por  $p^2 + 2pq + q^2$  para un locus bi-alélico.

**Equilibrio de Ligamiento:** ocurre cuando los alelos de dos o más loci co-ocurren en una medida que se espera al azar en loci independientes no ligados físicamente.

**Flujo genético:** transferencia de material genético de una población a otra siguiendo la dispersión y la subsecuente reproducción de individuos, propágulos o gametos.

**Frecuencia alélica:** se refiere a que tan común es un alelo en una población. Se determina calculado cuántas veces aparece el mismo alelo en la población y dividiendo esa cifra entre el número total de alelos.

 $F_{ST}$ : el inverso de la probabilidad de que dos gametos aleatorios, procedentes de la misma subpoblación, sean idénticos por descendencia, relativos a gametos tomados de toda la población; desarrollado por Wright (1951), esta es la medida más común utilizada para describir la diferenciación genética de las poblaciones.

**Genotipo:** información genética que posee un organismo en particular en forma de ADN.

**Heterocigocidad:** variación genética de una población respecto a un locus en particular. Definida como la frecuencia de heterocigotos para ese locus.

**Heterocigocidad esperada (He):** medida común de la diversidad genética que se refiere al nivel de heterocigocidad que se esperaría encontrar si una población está en Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Heterocigocidad observada (*Ho*): se refiere al nivel de heterocigocidad dentro de una población.

**Index:** secuencia corta de ADN introducida durante la amplificación por PCR de la librería final, que solo identifica productos de esa reacción de PCR. Usado en

combinación con los adaptadores y barcodes (código de barras) para crear múltiples pools.

**Isopicnas:** superficie o línea de densidad constante.

Locus: es el lugar o posición fija que ocupa un marcador o gen en el cromosoma.

**Microsatélite:** fragmentos de ADN que consisten en repeticiones de nucleótidos de 2 a 6 pares de bases. Los loci microsatélites son a menudo muy variables con respecto al número de estas pequeñas repeticiones, por lo que la variación alélica se puede estudiar como el tamaño del polimorfismo.

**Partícula inerte:** Partícula que se considera inmóvil, sin vida, sin capacidad para cambiar de lugar por sí misma.

**Pool:** combinación de individuos identificados previamente con un barcode individual, a los cuales se les agrega un index común.

**Shapefile:** formato en donde se almacenan datos vectoriales para almacenar información como la ubicación, forma y atributos de alguna entidad geográfica (representada usualmente como puntos, líneas o polígonos).

### Resumen

Las poblaciones marinas están conectadas por el movimiento de organismos adultos o mediante la dispersión de larvas. Sin embargo, el aislamiento por distancia, la discontinuidad de hábitats, los gradientes ambientales y las corrientes marinas pueden causar aislamiento entre poblaciones a través del tiempo, si los que promueven el flujo genético se ven interrumpidos mecanismos constantemente. El huachinango (Lutjanus peru) y el pargo amarillo (L. argentiventris) son dos especies de importancia pesquera en las costas del Pacífico Oriental Tropical (POT), para las cuales hay poco conocimiento sobre la estructura genética de sus poblaciones. Por esta razón, el objetivo del estudio fue evaluar la estructura genética poblacional de ambas especies en el POT, siguiendo dos enfoques: genético y modelación de transporte larval. Se colectaron muestras de aleta de adultos de L. peru en ocho localidades y de L. argentiventris en cinco localidades distribuidas en México, Panamá y Colombia. Se analizó la diversidad, estructura y flujo genético entre las poblaciones mediante 13 microsatélites para L. peru y 11 para L. argentiventris. La diversidad genética se calculó mediante la evaluación del número de alelos, número de alelos efectivos, número de alelos privados, heterocigocidad observada y esperada; la estructura genética consistió en la estimación de una serie de análisis como el análisis molecular de varianza (AMOVA), F<sub>ST</sub>, aislamiento por distancia (prueba de Mantel), STRUCTURE y un análisis de discriminantes de componentes principales (DAPC); el flujo genético se evaluó de dos maneras 1) basado en alelos privados y 2) mediante el uso de un método Bayesiano (BAYESASS) en donde se calcularon las tasas de migración. Por otro lado, se evaluó la cobertura de hábitats utilizados por ambas especies con el fin de ver discontinuidades de hábitats para juveniles y adultos. Para evaluar el efecto de las corrientes sobre la dispersión larval, se utilizaron datos de velocidad de corrientes (vectores U y V) del modelo HYCOM del año 2017, con los cuales se realizaron tres simulaciones 1) utilizando las coordenadas de registros de ocurrencias de adultos descargados de Global Biodiversity Information Facility (GBIF), 2) asumiendo una distribución continua a lo largo de toda su distribución y 3) tomando en cuenta la temporada reproductiva de ambas especies; se realizaron

corridas por estaciones del año (excepto para la temporada reproductiva) con una duración larval planctónica de 15 y 30 días. Las poblaciones de L. peru estuvieron divididas en cuatro grupos genéticos 1) Conquista Agraria más las localidades del Golfo de California (GC), 2) Nayarit, 3) Oaxaca y 4) Panamá y Colombia, mientras que las poblaciones de *L. argentiventris* se dividieron en tres grupos, 1) Isla Espíritu Santo y Altata, 2) San Bruno y Colima y 3) Panamá. Los impulsores para la estructura genética fueron relevantes a diferentes escalas geográficas. El aislamiento por distancia fue evidente a escalas grandes (>2500 km), mientras que a escalas locales (<250 km) la discontinuidad de hábitats usados por juveniles y adultos de ambas especies, los gradientes ambientales a lo largo del rango de distribución y las condiciones oceanográficas fueron los impulsores más importantes de la estructura genética en el GC y en el POT. Así mismo, el escenario de simulación que mejor representó la estructura genética debido a la dispersión larval fue el escenario de distribución continua. Se concluye que todos los impulsores estuvieron trabajando en conjunto en diferentes escalas espaciales y temporales, dando como resultado los patrones genéticos encontrados en el GC y POT.

### Abstract

Marine populations are connected by the movement of adult organisms or via larval dispersal. Nevertheless, isolation by distance, habitat discontinuities, environmental gradients and marine currents may cause isolation between populations through time, if the mechanisms that promote gene flow are constantly interrupted. There is few knowledge about the genetic structure of *L. peru* and *L. argentiventris* in the Tropical Eastern Pacific (TEP), for this reason, the aim of this study was to evaluate the population genetic structure of both species in the TEP, following two approaches: genetic analyses and larval transport modelling. Fin clips of *L. peru* and L. argentiventris where collected in eight and five localities, respectively, along Mexico, Panama and Colombia. The genetic diversity, genetic structure and gene flow were analyzed between populations with 13 microsatellites markers for *L. peru* and 11 for L. argentiventris. The genetic diversity was calculated with the number of alleles, number of effective alleles, number of private alleles and observed and expected heterozygosity's; the genetic structure consisted in the estimation of several analyzes like the analysis of molecular variance (AMOVA), Fsr, isolation by distance (Mantel test), STRUCTURE, and discriminant analysis of principal components (DAPC); the gene flow was evaluated in two ways 1) based on the private alleles and 2) through the use of a Bayesian method (BAYESASS) where the migration rates were evaluated. In addition, the habitat distribution of adults and juveniles for both species were evaluated in order to look for habitat discontinuities. To evaluate the effect of the ocean currents on the larval transport, current velocity data (U and V vectors) from the HYCOM model for the year 2017 were used, with which three simulations were carried out 1) using coordinate records of adult occurrences downloaded from the Global Biodiversity Information Facility (GBIF), 2) assuming a continuous distribution throughout its distributions range and 3) taking into account the reproductive season for both species; the simulations were carried out by the season of the year (except for the reproductive season) with a planktonic larval duration of 15 and 30 days. L. peru populations were subdivided in four genetic groups 1) Conquista Agraria and the localities inside de Gulf of California (GC), 2)

Nayarit, 3) Oaxaca and 4) Panama and Colombia, and *L. argentiventris* populations were divided in three genetic groups 1) Isla Espiritu Santo and Altata, 2) San Bruno and Colima, and 3) Panama. The drivers for the genetic structure where relevant at different geographic scales. The isolation by distance was evident at large scales (>2500 km), while at local scales (<250 km) the habitat discontinuities for juveniles and adults of both species, the environmental gradients along the distribution range and the oceanographic conditions were the most important drivers for the genetic structure in the GC and TEP. In addition, the simulations scenario that better represented the genetic structure was the number 2) continuous distribution. It was concluded that all the drivers were working together at different spatial and temporal scales, resulting in the genetic patters found in the GC and TEP.

### 1. Introducción

La mayoría de los organismos marinos a lo largo de sus vidas tienen una etapa planctónica en la cual pueden dispersarse, provocando conectividad. Esta, puede ser referida como el intercambio de individuos entre poblaciones de la misma especie que están separadas geográficamente (Cowen & Sponaugle 2009).

En particular, la conectividad larvaria de las especies marinas está influenciada por una serie de factores físicos y biológicos como: la época y sitio del desove, la duración larval planctónica (DLP), la interacción con la velocidad y dirección de las corrientes, así como la disponibilidad de hábitats para aquellas especies que utilicen uno o más o a lo largo de su ciclo de vida (Frisk et al. 2012; Blanco-Gonzalez et al. 2016; Pascual et al. 2017; Weeks 2017; Berkström et al. 2020)

Una forma de medir la conectividad es mediante la implementación de enfoques multidisciplinarios. Recientemente, la combinación de modelos oceanográficos con estudios de paisaje marino y genética de poblaciones ha dado una visión más amplia de la conectividad marina (Munguia-Vega et al. 2014; Xuereb et al. 2018; Berkström et al. 2020).

En este sentido, los modelos oceanográficos proveen hipótesis sobre la escala, dirección y magnitud de las corrientes que pueden dispersar huevos y larvas, mientras que los estudios genéticos permiten medir el flujo genético y la estructura genética entre sitios, mientras que, los estudios de paisaje marino permiten cuantificar la distancia entre parches de hábitats (Soria et al. 2012; Lodeiros et al. 2016; Torquato et al. 2019). Mediante la combinación de estos métodos, es posible la detección de rutas potenciales de conectividad entre poblaciones distantes, identificación de localidades fuente y sumidero de larvas (Crowder et al. 2000), así como la identificación de regiones que presenten discontinuidad entre parches de hábitats.

Esta información es de vital importancia para el manejo de los recursos marinos y para mejorar el diseño y manejo de áreas marinas protegidas (Munguia-

Vega et al. 2014; Jackson et al. 2015; Almany et al. 2017), como pueden ser los sitios potenciales de reclutamiento y crianza de larvas y juveniles.

El Pacífico Oriental Tropical (POT) es una región altamente dinámica con estructuras oceanográficas como corrientes, remolinos, meandros y filamentos, que previamente han sido asociados a la dispersión larval (Fiedler & Talley 2006; Kessler 2006). Algunos estudios han identificado como la hidrodinámica de esta zona influye en el transporte larval de algunas especies de corales (Wood et al. 2016; Romero-Torres et al. 2017, 2018), sin embargo, las consecuencias del transporte larval sobre la distribución poblacional de peces de arrecife rocoso no ha sido probada para esta área. Por esta razón que el POT es un sistema modelo para estudiar como las corrientes marinas y la discontinuidad de hábitats influyen en la distribución de los peces arrecifales (Sandoval-Huerta et al. 2019).

En particular, Lutjanus peru y L. argentiventris son considerados una fuente económica y alimenticia importante en muchas de las comunidades costeras a lo largo del POT (Gold et al. 2015). Particularmente en las costas del Pacífico Mexicano, en algunas temporadas del año, la pesca ribereña se enfoca principalmente en *L. peru*, ya que representa un gran ingreso económico a los pescadores (Zárate-Becerra et al. 2014). De acuerdo a estadísticas oficiales, la producción de *L. peru* osciló entre las 18, 068 toneladas para el Pacífico Mexicano durante el año 2017. Particularmente, los primeros lugares de producción de L. peru son los estados de Baja California Sur [(GC) 3,910 t], Sinaloa (2,378 t), Nayarit (3,637 t) y Oaxaca [2.200 t, (SAGARPA 2017)]. Por otro lado, L. argentiventris produjo un total de 10,253 t en el Pacífico Mexicano en 2017 y los estados con más producción fueron Sinaloa (1,751 t) y Colima [391 t, (SAGARPA 2017)]. Es importante mencionar que en los reportes de producción de "Huachinango" o L. peru incluyen tres especie: L. peru, L. guttatus y "Guachito", mientras que L. argentiventris está dentro de la categoría de "pargo", la cual incluye más de 13 especies (SAGARPA 2017) haciendo difícil tener buenas estimaciones de la pesquería de ambas especies.

Ambas especies comparten gran parte de su rango de distribución. La distribución de *L. peru* comienza en Bahía de Magdalena, México hasta el norte de Perú y la de *L. argentiventris* comienza en la parte sur de California, E.U.A. hasta el norte de Perú (Fischer et al. 1995; Zárate-Becerra et al. 2014).

El periodo de desove de ambas especies varía a lo largo de su distribución y está relacionada con las condiciones ambientales, principalmente la temperatura (Rojas et al. 2004; Trejos-Castillo et al. 2007; Piñón et al. 2009; Erisman et al. 2010; Gallardo-Cabello et al. 2010; Zárate-Becerra et al. 2014; Vega et al. 2016). El periodo larval planctónico es de 30 días (Claro & Lindeman 2008). Ambas especies presentan cambios de hábitat ontogénicos: los juveniles de *L. peru* se reclutan en fondos blandos (Rocha-Olivares 1998), mientras *L. argentiventris* en manglares (Zapata & Herrón 2002; Aburto-Oropeza et al. 2009). Una vez que los juveniles alcanzan la adultez, ambas especies se encuentran en arrecifes rocosos o montes submarinos (30 - 100 m de profundidad para *L. peru*, 0 - 60 m para *L. argentiventris*) (Fischer et al. 1995; Gallardo-Cabello et al. 2010; Tinhan et al. 2014; Green et al. 2015).

Los factores biológicos antes mencionados, en conjunto con los factores físicos como la distancia geográfica entre poblaciones, las corrientes marinas, la discontinuidad de hábitats y las diferencias ambientales (temperatura, salinidad) (Berkström et al. 2012, 2020; Blanco-Gonzalez et al. 2016; García-De León et al. 2018; Reguera-Rouzaud et al. 2020) a lo largo del rango de distribución de *L. peru* y *L. argentiventris,* son los principales factores que determinan la estructura genética y la homogenización de las poblaciones (Reis-Santos et al. 2018; Schunter et al. 2019).

Varios estudios han descrito cómo los factores físicos facilitan o restringen el flujo genético a través de las poblaciones de peces de arrecife rocoso (Riginos & Liggins 2013). Se ha encontrado que el aislamiento por distancia ha tenido un efecto a escalas mayores a 1000 km (Kennington et al. 2017; Dalongeville et al. 2018), mientras que a escalas menores (<1000 km) la estructura genética es causada principalmente por la dispersión larval mediada por las corrientes (Perez-Enriquez

y Taniguchi 1999; Dalongeville et al. 2018). Por otra parte, se ha comprobado que la disponibilidad de sitios de crianza cerca de los arrecifes rocosos, dentro de un radio de 150 km de los manglares, ha incrementado la abundancia y conectividad de algunos pargos (Berkström et al. 2020).

Se han encontrado algunos patrones de diferenciación genética en algunas especies de peces en el POT. Sandoval-Huerta et al. (2019) utilizaron el marcador mitocondrial citocromo b en *Elacatinus puncticulartus* (Gobiidae) y encontraron interrupciones para el flujo genético en el Sur de México (Oaxaca), centro de Panamá y centro de Colombia. García-De León et al. (2018) utilizando marcadores microsatelitales en *Mercluccius productus* (Merlucciidae) hallaron interrupciones al centro del GC y al sur de México (Guerrero). Por otra parte, Pacheco-Almanzar et al. (2020) utilizando microsatélites en *Mugil curema* (Mugilidae) encontraron una interrupción al flujo genético al sur de México (Oaxaca).

Particularmente para *L. peru*, un estudio filogenético con ADN mitocondrial reportó panmixia, posiblemente explicada por el amplio rango de dispersión larval sobre escalas de tiempo prolongadas al sur del GC (Rocha-Olivares & Sandoval-Castillo 2003) y en el POT (Hernández-Álvarez et al. 2020). En contraste, un estudio con marcadores microsatelitales al sur del GC encontró niveles bajos, pero significativos, de estructura poblacional, explicada por la fuerte asimetría de las corrientes oceánicas en la zona (Munguia-Vega et al. 2018a).

En *L. argentiventris* se ha reportado homogenización genética entre las poblaciones de la costa peninsular y continental del sur del GC. Sin embargo, se encontró una estructura metapoblacional causada por la presencia de remolinos en contacto con ambas líneas de costa (Reguera-Rouzaud et al. 2020).

Estos estudios con resultados contrastantes resaltan la importancia de realizar un estudio de genética de poblaciones para *L. peru* y *L. argentiventris* utilizando marcadores microsatelitales, en combinación con modelos oceanográficos y técnicas paisajísticas para aportar información sobre la distribución de las poblaciones de ambas especies a lo largo de la plataforma

continental del POT, y así obtener una línea base de conocimiento para que en un futuro sea posible plantear estrategias más adecuadas de manejo.

# 2. Hipótesis

Debido al transporte larval y movimiento de adultos de *L. peru* y *L. argentiventris* se espera que presentan conectividad a escalas locales (<150 km); mientras que, para el resto del Pacífico Oriental Tropical (>150 km) se espera que la conectividad sea interrumpida por el aislamiento por distancia y por la discontinuidad de hábitats de reclutamiento de juveniles y adultos. Además, se espera encontrar reducción del flujo genético debido a las diferencias ambientales (físico-químicas) entre ecoregiones y a la probabilidad de ocurrencia de ambas especies mediada por el ambiente.

# 3. Objetivo

Evaluar la estructura genética poblacional de *Lutjanus peru* y *Lutjanus argentiventris* en el Pacífico Oriental Tropical, así como las rutas potenciales de transporte larval.

### 3.1. Objetivos específicos

- Estimar la diversidad y estructura genética poblacional en las muestas de Lutjanus peru y L. argentiventris de diferentes localidades con marcadores microsatelitales.
- 2. Evaluar la distribución de hábitat de juveniles y adultos de *L. peru* y *L. argentiventris.*
- 3. Estimar las rutas de conectividad con datos de velocidad de correintes provenientes del modelo Hybrid Coordinate Ocean Model (HYCOM).
- Buscar e identificar polimorfismos de un solo nucleótido (SNP´s), mediante la técnica de doble digestión RADseq.

### 4. Materiales y métodos

### 4.1. Área de estudio

El área de estudio constó de dos regiones, el GC y el POT. El GC es un mar angosto y semicerrado que consta de 1400 km de largo y en la parte más ancha mide de 150 a 200 km. Las masas de agua superficiales (0 a 100 m) presentes son el Agua Tropical Superficial y el Agua del Golfo de California (Lavín & Marinone 2003). Esta región se caracteriza por presentar un fuerte componente mesoescalar, incluyendo frentes y remolinos, relacionados a la estacionalidad de las corrientes y la interacción con la batimetría (Lavín et al. 2013, 2014). La parte norte del GC es dominada por un remolino estacional reversible, el cual es ciclónico de junio a septiembre y anticiclónico de noviembre a abril con velocidades aproximadas de 0.32 m/s en ambas estaciones. La parte sur del GC es dominada por una circulación anticiclónica durante invierno y ciclónica durante verano (Lavín & Marinone 2003), cabe resaltar que en esta zona se genera un tren de remolinos durante verano [(Pegau et al. 2002; Zamudio et al. 2008) Figura 1a].

El POT comprende desde la punta sur de Baja California hasta Perú. Las masas de agua superficiales presentes en el área son el Agua Tropical Superficial y el Agua Superficial Ecuatorial (Fiedler & Lavín 2016). La circulación superficial en esta área está dominada principalmente por el viento y es caracterizada por remolinos permanentes, áreas discretas de surgencias, la estacionalidad de la zona de convergencia intertropical (ZCIT) y el fortalecimiento de los vientos alisios que imponen una señal estacional sobre la circulación del Pacífico central y el POT (Fiedler & Lavín 2016). Las corrientes superficiales y subsuperficiales presentes cerca del continente Americano son la Corriente Costera Mexicana [alcanza velocidades de 30 a 80 cm/s (Gómez-Valdivia et al. 2015)] y la Corriente Costera de Costa Rica, también hay otras estructuras estacionales como el Tazón de Tehuantepec, el Domo de Costa Rica y los jets de Tehuantepec, Papagayo y Panamá (Kessler 2006). El Tazón de Tehuantepec está presente durante invierno y se debilita durante verano-otoño (Kessler 2006); el Domo de Costa Rica es creado por el bombeo de Ekman, su formación comienza en Marzo cuando su diámetro es pequeño (500 km) y está unido a la costa, se desarrolla durante el año en concordancia con el movimiento de la ZCIT alcanzando su máxima elongación (1000 km) en noviembre. Los jets de Tehuantepec, Papagayo y Panamá son intermitentes y solo se presentan de noviembre a abril debido al fortalecimiento de los vientos alisios [>15 m/s (Fiedler & Lavín 2016)], provocando áreas de surgencias que tienen efecto sobre la concentración de clorofila y distribución de la temperatura, mostrándose como áreas productivas (Lavín et al. 2006). A los costados de los jets de Tehuantepec y Papagayo se asocian remolinos de mesoescala (Fiedler & Lavín 2016). Por otra parte, la circulación de la ensenada de Panamá (entre Panamá y Colombia), es dominada por un remolino geostrófico ciclónico con un diámetro aproximado de 400 km y velocidad entre 30 a 60 cm/s durante todo el año, pero en invierno el remolino es más intenso (Chaigneau et al. 2006); el extremo oriental del remolino se une con la corriente de Colombia (~ 50 cm/s). Otro aspecto importante de la hidrografía del POT es la alberca de agua cálida del Pacífico (> 27.5°C), que se caracteriza por ser una zona con agua cálida y de baja salinidad, situada por encima de una fuerte y somera termoclina (Fiedler & Talley 2006; Fiedler & Lavín 2016) que constituye una provincia biogeográfica en el océano abierto (Lavín et al. 2006). A su vez el POT presenta una zona de mínimo de oxígeno que se encuentre entre la termoclina y las masas de agua intermedias, es remarcable por su tamaño y por su gado de hipoxia. La extrema deficiencia de oxígeno es atribuida a 1) una alta producción fitoplanctónica en superficie, 2) una fuerte picnoclina permanente que impide la ventilación de las aguas subsuperficiales y 3) una circulación profunda lenta [(Lavín et al. 2006; Fiedler & Lavín 2016) Figura 1b].



Figura 1. Area de estudio. a) Circulación general del Golfo de California, las líneas rojas representan la circulación en verano y las azules en invierno, al centro se encuentra el tren de remolinos formados durante verano. b) Circulación general del Pacífico Oriental Tropical con estructuras hidrográficas: Tazón de Tehuantepec (TT), el Domo de Costa Rica (DCR) y la alberca de agua cálida del Pacífico (ACP). Corriente Costera Mexicana (CCM), Corriente Costera de Costa Rica (CCRC), Corriente del Golfo de Panamá (CGP), Corriente Colombiana (CC), giro ciclónico de la ensenada de Panamá (GCEP), Contracorriente Norecuatorial (CCNE), Contracorriente Norecuatorial Subsuperficial (CCNESBS), Corriente Surecuatorial (CSE), Contracorriente Surecuatorial Subsuperficial (CCSESBS), Corriente de Humbolt (CH). Las líneas continuas representan las corrientes superficiales y las punteadas las corrientes subsuperficiales.

### 4.2. Muestreo

Se colectaron muestras de aletas de adulto de *L. peru* y *L. argentiventris* en doce localidades del POT (Tabla 1). Las muestras de *L. peru* se colectaron en Conquista Agraria (costa del Pacífico de Baja California Sur), San Bruno, Loreto e Isla Espíritu Santo (costa del Golfo de California de Baja California Sur), Guaymas (Sonora), Topolobampo (Sinaloa), Santa Cruz (Nayarit), Salina Cruz (Oaxaca), puerto de Panamá (Panamá) y Buenaventura (Colombia), mientras que las muestras de *L. argentiventris* se colectaron en San Bruno e Isla Espíritu Santo (Baja California Sur), Altata (Sinaloa), Colima y el puerto de Panamá (Figura 2). Las muestras se colectaron con ayuda de capturas comerciales y fueron fijadas en etanol al 80% para su análisis genético.

**Tabla 1.** Localidades, tamaño de muestra (*N*) y año de colecta de *Lutjanus peru* y *Lutjanus argentiventris*. Conquista Agraria (CAA), San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Altata (ALT), Colima (CMA), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

Especie	Localidad	Ν	Año de colecta
	CAA	48	2017
	SBO	48	2017
	LTO	48	2017
	IES	48	2017
L. peru	GUA	48	2017
	TOP	48	2016
	NAY	48	2017
	OAX	48	2017
	PAN	30	2017
	COL	32	2017
	SBO	43	2017
	IES	32	2015
L. argentiventris	ALT	32	2016
-	CMA	32	2017
	PAN	32	2017



**Figura 2.** Puntos de muestreo. Los círculos rojos representan las localidades muestreadas para *L. peru* (a) y los círculos azules para *L. argentiventris* (b). Conquista Agraria (CAA), San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Altata (ALT), Nayarit (NAY), Colima (CMA), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

### 4.3. Marcadores microsatelitales

### 4.3.1. Extracción y estandarización de ADN

Se realizaron extracciones de ADN con el método modificado de extracción de sales propuesto por Lopera-Barrero et al. (2008) descrito a continuación. Cada aleta se cortó y se colocó en un tubo para microcentrífuga por separado, se le adicionó una solución amortiguadora de lisis (5M NaCl, 1M Tris pH 8, 0.5 M EDTA pH 8 y 10% SDS) y proteinasa-K (2 mg/mL) y se colocó en una incubadora a 55°C hasta que se completó la digestión o lisis celular. Se agregaron 200µL de NaCl saturado (5.3M) a cada tubo y se incubaron en hielo durante 12 horas. El tubo se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos, se transfirió el sobrenadante (500-600 μL) a un tubo de 1 mL con etanol absoluto frío y se agitó varias veces para precipitar el ADN. Se centrifugó a 13,000 rpm durante 10 minutos, se decantó el etanol cuidando que el botón de ADN no se despegara del fondo del tubo. Se lavó con 1 mL de etanol al 70%, se centrifugó a 13,000 rpm durante 10 min, se decantó el etanol, se dejó secar el botón de ADN y se resuspendió en 100 µL de TE (Tris-HCL 1M pH 7.5, EDTA 0.5mM pH 8). Se midió la concentración de ADN con un fluorómetro Qubit (ThermoFisher). Cada extracto de ADN fue estandarizado a una concentración de 30 ng/µL con H<sub>2</sub>O grado molecular.

### 4.3.2. Amplificación de microsatélites y lectura de genotipos

Se utilizaron 14 microsatélites para *L. peru* (Paz-García *et al.*, 2016; Perez-Enriquez *et al.*, 2020) y 12 para *L. argentiventris* (Perez-Enriquez *et al.*, 2020; Reguera-Rouzaud *et al.*,2020). Las PCR se llevaron a cabo siguiendo un método modificado de touch-down (Munguia-Vega et al. 2010), descrito brevemente a continuación: En un volumen final de 15 µL con 2 µL de ADN (30ng/µl), se adicionaron buffer para PCR (1X), 0.2mM dNTPs, 2.1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 U de Taq platinum (Invitrogen), 0.2µM de marcador fluorescente con M13 (FAM, PET, VIC, NED), 0.033 µM del iniciador F (sentido) con la secuencia M13 en el extremo 5'(5' TGT AAA ACG ACG GCC AGT 3') (Schuelke 2000), y 0.33 µM de iniciador R (antisentido). Las condiciones termales fueron las siguientes: 94°C por 5 min, 15 ciclos de 94°C por 30 s, 65-50°C (disminuyendo 1°C por cada ciclo) y 72°C por 30 s, seguido de 40 ciclos de 94°C por 30 s, 55°C por 30 s, 72°C por 30 s y una extensión final de 72°C durante 5 min. Finalmente, los productos de PCR fueron verificados en un gel de agarosa al 1.5% y se enviaron a análisis de fragmentos en un secuenciador automático (ABI3730, Applied Biosystems, Carlsbad, CA) en la Universidad de Arizona, EUA.

De los archivos provenientes del análisis de fragmentos, se procedió a hacer el genotipado de los individuos de *L. peru* y *L. argentiventris*, de cada localidad, con el programa GeneMaker (SoftGenetics, State Collage, PA).

### 4.3.3. Análisis de diversidad y estructura genética para microsatélites

Una vez obtenidos los genotipos, se homogenizaron las lecturas de los alelos de los individuos de todas las localidades con el programa Flexibin (Amos *et al.* 2007). Los individuos que presentaron >10% de datos faltantes fueron eliminados. Se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) con el programa Genepop (Raymond & Rousset 1995) y el equilibrio de ligamiento (EL) mediante el programa Fstat (Goudet 1995); las pruebas fueron entre pares de loci, por localidad. Los niveles de significancia ( $\alpha$ = 0.05) de las pruebas múltiples (EHW y EL) se ajustaron con la prueba secuencial de Bonferroni (Rice 1989). Se estimó la frecuencia de alelos nulos (método de Brookfield) con el programa Microchecker (Van Oosterhout *et al.* 2004); para evaluar el efecto de la presencia de alelos nulos en la estructura poblacional, aquellos los loci que tuvieron una frecuencia promedio de alelos nulos  $\geq$  0.05 y presentaron desviaciones significativas del EHW fueron candidatos a ser removidos de la base de datos.

Los estimadores de diversidad genética se obtuvieron con el programa GenAIEx (Peakall & Smouse, 2012). Se evaluó el número de alelos por locus (*Na*), número de alelos efectivos (*Naf*), alelos privados (*AP*) y la heterocigocidad esperada (*He*) y observada (*Ho*). Así mismo, para evaluar si había diferencias significativas en los índices de diversidad (*Na, Naf, He* y *Ho*) entre todas las localidades de *L*. *peru* y *L. argentiventris*, se realizaron pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis con el programa STATISTICA (Hilbe 2007).

La diferenciación genética entre poblaciones de *L. peru* y *L. argentiventris* se evaluó con el programa ARLEQUIN 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010) por medio de un análisis molecular de varianza (AMOVA) global, así como del estimador  $F_{ST}$  (Weir & Cockerham, 1984). La estructura genética entre las poblaciones fue evaluada por medio del  $F_{ST}$  pareado y un AMOVA jerárquico. Se realizaron varias pruebas de AMOVA jerárquico hasta encontrar los grupos que explicaran la mayor varianza dentro y entre las poblaciones (Anexos 3 y 4). Para *L. peru* el grupo con la mayor varianza explicada por el AMOVA jerárquico fue el siguiente: 1 = Conquista Agraria, San Bruno, Loreto, Isla Espíritu Santo, Guaymas y Topolobampo, 2 = Nayarit, 3 = Oaxaca y 4 = Panamá y Colombia; para *L. argentiventris*: 1 = San Bruno, 2 = Isla Espíritu Santo y Altata, 3 = Colima y 4 = Panamá. El nivel de significancia ( $\alpha$  = 0.05) fue ajustado después de las múltiples pruebas del  $F_{ST}$  pareado con el ajuste secuencial de Bonferroni (Rice 1989).

Se implementó un método Bayesiano por medio del programa STRUCTURE (Pritchard et al. 2000), el cual permite inferir la estructura genética poblacional formando grupos (*K*) basados en los genotipos y frecuencias alélicas de cada locus. Los parámetros para correr el modelo fueron los siguientes: 1'000,000 de cadenas de Markov y Monte Carlo, de las cuales el primer 25% fue descartado como precalentamiento, se utilizó el modelo de Mezcla y frecuencias alélicas correlacionadas. Para *L. peru* se probaron de 1 a 7 *K* y para *L. argentiventris* de 1 a 3 *K*, con 10 iteraciones por cada *K* (Hubisz *et al.*, 2009). Los grupos (*K*) más probables fueron seleccionados utilizando el programa CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015).

Se obtuvieron las posibles interrupciones para el flujo genético de *L. peru* y *L. argentiventris* entre las localidades consideradas por medio del algoritmo de máxima diferenciación de Monmonier, implementado en el programa Alleles in space (Miller 2005).

Además, se llevó a cabo un análisis de discriminantes de componentes principales (DAPC) con el paquete Adegenet (Jombart et al. 2010) implementado
en el lenguaje de programación R. El DAPC es un análisis que maximiza las diferencias entre los grupos o poblaciones y minimiza la variación dentro de los grupos; funciona en dos partes, en la primera se realiza un análisis de componentes principales (PCa) y en la segunda se realiza el DAPC. La primera parte del análisis, en L. peru, consistió en elegir 4 grupos iniciales basados en el AMOVA jerárquico. Posteriormente se decidió retener 200 PCa y por último el criterio de información Bayesiano (BIC) indicó la formación de 4 grupos, en la segunda parte del análisis (DAPC) se decidió retener 100 PCa y 9 eigenvalores. En L. argentiventris se eligieron 4 grupos basados en el AMOVA jerárquico, después se retuvieron 120 PCa y 3 grupos indicados por el BIC, para el DAPC se retuvieron 60 PCa y 4 eigenvalores. A su vez se obtuvieron las probabilidades de membresía de cada localidad, las cuales indicaron qué tan bien estaban definidos los grupos genéticos. Se puede considerar a individuos mezclados a aquellos que muestren probabilidad menor al 0.9 en un solo grupo. Los individuos se asignan al grupo con la mayor probabilidad de pertenencia (Jombart et al. 2010; https://adegenet.r-forge.rproject.org/files/tutorial-dapc.pdf).

Se evaluó el poder estadístico que tuvieron los marcadores microsatelitales para detectar la estructura genética poblacional utilizando el programa POWSIM (Ryman & Palm 2006). Los 13 y 11 marcadores microsatelitales para *L. peru* y *L. argentiventris*, respectivamente, fueron evaluados con los siguientes parámetros recomendados por el manual de POWSIM: Pruebas exactas de Fisher (10,000 cadenas de calentamiento, 1000 simulaciones, 10,000 iteraciones por simulación), 200 réplicas, y un tamaño efectivo poblacional de 2000 para ambas especies. Treinta y dos (*L. peru*) y 28 (*L. argentiventris*) generaciones de deriva fueron elegidas acorde a los valores de *F*<sub>ST</sub> predefinidos de 0.008 para *L. peru* y 0.009 para *L. argentiventris*. Estos valores de *F*<sub>ST</sub> fueron los más pequeños que mostraron diferenciación en el análisis de *F*<sub>ST</sub> pareado.

Para comprobar si existía aislamiento por distancia en ambas especies, se realizó una correlación entre las distancias genéticas ( $F_{ST}$ ) y las geográficas con 10,000 permutaciones utilizando el programa ARLEQUIN.

13

El flujo genético se estimó como el número de migrantes (*Nm*) entre pares de poblaciones con base en el número de alelos exclusivos de cada localidad (ec. 1) (Slatkin 1985). A su vez se utilizó un método Bayesiano para estimar las tasas de migración reciente (sobre las últimas generaciones) entre las poblaciones con el programa BAYESSASS (Wilson & Rannala 2003). Las tasas de migración fueron basadas exclusivamente en tasas  $\geq 0.03\%$ , ya que las tasas de migración por debajo de este valor podrían ser consideradas despreciables o falsos positivos (Cisneros-Mata et al. 2018).

$$Nm = e^{\left(\frac{\ln(pl) + 2.44}{-0.505}\right)}$$
(ec. 1)

donde pl = frecuencia promedio de alelos exclusivos.

#### 4.4. Distribución de hábitat y modelación de nicho ecológico

Se evaluó si la estructura genética de *L. peru* y *L. argentiventris* estaba influenciada por la distribución de los hábitats de reclutamiento para juveniles y adultos. Se obtuvo información en formato shapefile de los arrecifes rocosos, manglares y fondos blandos para el GC y el POT de Halpern *et al.*, (2019), Munguia-Vega *et al.* (2018b) y The global mangrove watch (GMW 2016; https://www.globalmangrovewatch.org/). Cabe señalar que solo la información de manglares tuvo que ser unida en polígonos de 75 km de largo debido a la gran cantidad de información (> 30,000 polígonos), es decir, todo aquel polígono de manglar que estuviera dentro de un área de 75 km de largo se unió y se consideró como un solo polígono.

Para la preparación de los shapefiles, el hábitat de fondo blando y arrecife rocoso de *L. peru* fue acotado a la isóbata de 100 m y la información de arrecifes rocosos y mangarles para *L. argentiventris* fue acotada a 60 m, ya que es la profundidad máxima a la que se pueden encontrar ambas especies como adultos. Se utilizó la herramienta de CONEFOR (Pascual-Hortal & Saura, 2006) dentro de QGIS para medir la distancia que había entre cada polígono para cada uno de los hábitats. La distancia máxima a la cual los polígonos podían estar conectados entre sí fue de 150 km, los polígonos que no cumplieran con esta condición fueron descartados. La distancia de dispersión larval para un periodo de deriva de 20 a 26 días es de 150 km para varios pargos como *L. peru.* (Munguia-Vega et al. 2018a), *L. argentiventris* (Reguera-Rouzaud et al. 2020), *L. campechanus, L. synagris, L. analis, L. jocu, L. griseus* y *L. cynopterus* (Kough et al. 2016). Posteriormente se siguió un enfoque teórico-gráfico (Munguia-Vega *et al.,* 2014; Treml *et al.,* 2008) para construir una red especial de polígonos conectados entre sí, representando los parches de hábitats que estaban unidos, esto en el programa ArcGIS 10.5.

La modelación de nicho ecológico se hizo para compensar la falta de muestras desde el sur de México hasta Colombia, donde poblaciones de *L. peru* y *L. argentiventris* potencialmente pudieran estar presentes y representar una conexión importante entre los sitios de muestreo. Las ocurrencias de *L. peru* (113) y *L. argentiventris* (571) fueron descargadas de Global Biodiversity Information Facility (GBIF; www.gbif.org) con los siguientes filtros: observaciones humanas, material muestreado y especímenes preservados. Los datos ambientales (obtenidos de la plataforma bio-ORACLE) utilizados fueron promedios mensuales del 2000 al 2014 de temperatura (°C), salinidad (PSS), clorofila-a (mg/m<sup>3</sup>), concentración de oxígeno disuelto (mol/m<sup>3</sup>), pH, silicatos (mol/m<sup>3</sup>), fosfatos (mol/m<sup>3</sup>) y nitratos (mol/m<sup>3</sup>) (Assis et al. 2018).

Para obtener la probabilidad de ocurrencia de las dos especies, tanto las ocurrencias como los datos oceanográficos fueron procesados en ModestR (García-Roselló et al. 2013). Solo las ocurrencias de GBIF desde Conquista Agraria hasta Colombia para *L. peru* y las ocurrencias desde el GC hasta Colombia para *L. argentiventris* fueron tomadas en cuenta. Los datos fueron filtrados de acuerdo con los criterios de García-Roselló et al. (2014). Se realizó un mapa de densidad para calcular el grado de ocurrencia de ambas especies, se calculó el porcentaje de contribución de las variables oceanográficas y finalmente el nicho de ocurrencia fue evaluado basado en el grado de ocurrencia (García-Roselló et al. 2013, 2014).

Se determinó si las diferencias ambientales entre las ecoregiones (Transición de Magdalena, Cortés, Pacífico Tropical Mexicano, Chiapas-Nicaragua, Nicoya y la

ensenada de Panamá) (Spalding et al. 2007) representaban una barrera para el flujo genético. Las variables ambientales provenientes de bio-ORACLE fueron extraídas para cada una de las ocurrencias de ambas especies y procesadas usando un análisis de discriminantes en el programa RWizard (<u>http://www.ipez.es/RWizard/</u>).

# 4.5. Estimación de la conectividad basado en el modelo de circulación oceánico Hybrid Coordinate Ocean Model (HYCOM)

El Hybrid Coordinate Ocean Model (HYCOM) es un modelo de circulación general oceánico que utiliza como base de la dinámica oceánica las ecuaciones de Navier-Stokes de conservación de masa y energía para fluidos en rotación. Las coordenadas verticales son isopícnicas en el océano abierto y estratificado. Usa la ecuación de continuidad en capas para hacer una transición dinámica suave a las coordenadas de seguimiento de la batimetría en regiones costeras poco profundas y a las coordenadas del nivel z en la capa mixta o regiones no estratificadas. Mantiene las ventajas de un modelo isopícnico en las regiones estratificadas mientras permite una mayor resolución vertical cerca de la superficie y en áreas someras, proveyendo una mejor representación de la física del océano superficial. El HYCOM global tiene una resolución espacial de 1/12° en el ecuador (aproximadamente 7 km en latitudes medias) y temporal de 3 horas, así mismo cuenta con 41 capas de información que van desde los 0 hasta los 5000 m (Wallcraft et al. 2009).

## 4.5.1. Diseño del modelo

Para evaluar las rutas de transporte larval de *L. peru* y *L. argentiventris* a lo largo del GC y el POT, se realizaron simulaciones de dispersión de partículas utilizando datos de corrientes del modelo HYCOM. Se descargaron los componentes de velocidad de corrientes U y V a 30 m de profundidad [donde se ha reportado mayor abundancia de lutjanidos (Sánchez-Velasco et al. 2013)] para el periodo del 01/12/2016 al 31/11/2017. Posteriormente, se desarrolló el código en Matlab para simular las trayectorias del transporte larval para las cuatro estaciones

del año: invierno (diciembre 2016 – febrero 2017), primavera (marzo – mayo 2017), verano (junio – agosto 2017) y otoño (septiembre – noviembre 2017).

Cabe señalar que las trayectorias fueron simuladas considerando a las larvas como partículas inertes por un periodo de 30 días de DLP (Claro & Lindeman 2008).

Con el fin de evaluar los sitios fuente y sumidero de las trayectorias simuladas, se hicieron 115 polígonos con una longitud de 75 km de largo, así mismo, con fines de apreciación, el área de estudio se dividió en 3 zonas: GC, Pacífico tropical mexicano y Centroamérica - Colombia (Figura 3), utilizando el programa ArcGIS. La longitud de los polígonos fue elegida debido a que es aproximadamente la mitad de la distancia recorrida para una DLP de 20 a 26 días por varias larvas de pargos como L. peru. (Munguia-Vega et al. 2018a), L. argentiventris (Reguera-Rouzaud et al. 2020), L. campechanus, L. synagris, L. analis, L. jocu, L. griseus y L. cynopterus (Kough et al. 2016). Para la construcción de los polígonos se descargaron datos batimétricos de the General Bathymetric Chart of the Oceans [GEBCO (https://www.gebco.net/data\_and\_products/gridded\_bathymetry\_data/)] y las isóbatas de los 0 y 200 m fueron usadas como proxy de la plataforma continental. Para las áreas en donde la plataforma continental fue menor a 30 km de ancho (como el área del Pacífico tropical mexicano y algunas partes de Centroamérica), los polígonos se extendieron hasta la isóbata de los 1000 m. La extensión de la plataforma se hizo debido a que en general hay falta de información del HYCOM en los primeros 20 km a partir de la línea de costa, y en gran parte del Pacífico tropical mexicano y Centroamérica la plataforma mida menos de 20 km, por lo tanto, los datos de trayectorias no eran registrados.



**Figura 3.** Área de estudio para las simulaciones. Numeración de polígonos para la identificación del sitio fuente y sumidero de las trayectorias simuladas (polígonos azules), subdivisión del área de estudio por zonas (paneles b-d). Sitios de toma de muestra para datos genéticos (paneles b-d). Conquista Agraria (CAA), San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Altata (ALT), Colima (CMA), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

#### 4.5.2. Escenarios de simulación

Se consideraron tres escenarios de simulación en donde en cada uno se tomaron en cuenta criterios diferentes para obtener las coordenadas de inicio de las trayectorias, cabe resaltar que la información de circulación oceánica fue la misma para los tres escenarios:

a) El primer escenario consistió en obtener las coordenadas de ocurrencia de *L. peru y L. argentiventris* del Global Biodiversity Facility (GBIF; www.gbif.org), utilizando los filtros de observaciones humanas, material muestreado y especímenes preservados. Para especificar los puntos en donde las larvas fueron sembradas, los sitios más probables de inicio de trayectorias fueron evaluados de la siguiente manera: solo las coordenadas entre los 0 y 200 m de profundidad (plataforma continental) fueron tomados en cuenta, a cada coordenada de ocurrencia se le asignó una zona de amortiguamiento (buffer) de 0.3° limitado a la plataforma continental. Del total de pixeles (representando coordenadas) presentes dentro de la zona de amortiguamiento, se eligieron de manera aleatoria el 10% de los pixeles que tuvieran la mayor probabilidad de estar más cerca de la coordenada



**Figura 4.** Ejemplo de selección de áreas más probables de inicio de trayectorias. Los puntos verdes representan a las ocurrencias (GBIF) y las cruces los puntos de inicio de las trayectorias. La escala de color representa las áreas más probables en azul y menos probables en rojo. La línea segmentada representa la isóbata de 200 m.

Debido a que la asignación de puntos aleatorios tuvo una mayor resolución que los datos de velocidad de corrientes del HYCOM (~8.8 km), se realizó una reducción de los puntos aleatorios de la siguiente manera: Se obtuvo el centroide de cada pixel de los datos del HYCOM solo para la plataforma continental y se le asignó a cada uno una zona de amortiguamiento de 4.4 km de radio (para hacer una aproximación a la cobertura cuadrada de los pixeles del HYCOM); posteriormente, para la reducción de puntos aleatorios se calculó el promedio de la posición (latitud, longitud) de los puntos que estuvieron dentro de cada zona de amortiguamiento, tanto para *L. peru* como para *L. argentiventris* para obtener las coordenadas definitivas para el inicio de las trayectorias (Figura 5); las áreas con mayor ocurrencia tuvieron más puntos de inicio.



**Figura 5**. Puntos de inicio de trayectorias. Ejemplo de puntos de inicio (rojos) antes del promedio en Bahía de La Paz, B.C.S. (a) y puntos de inicio de trayectorias después del promedio (b). Los círculos grises son una representación aproximada (4.4 m de diámetro) de la cobertura (cuadrada) de los pixeles del HYCOM

A cada coordenada de inicio (Figura 6) se le asignó una fecha aleatoria para la temporada del año a simular [invierno (diciembre 2016 – febrero 2017), primavera (marzo – mayo 2017), verano (junio – agosto 2017) y otoño (septiembre – noviembre 2017] para representar distintos desoves a lo largo del año. La simulación de trayectorias del transporte larval comenzó a las 18:00 h a partir de la fecha establecida y se dejaron advectar por 30 días. La cantidad de trayectorias simuladas por cada estación del año fue de 4782 (*L. peru*) y 9626 (*L. argentiventris*). Las simulaciones comenzaron a las 18:00 h debido a que se han reportado lutjanidos desovando al atardecer (Sala et al. 2003; Heyman et al. 2005).



**Figura 6**. Puntos de inicio de las trayectorias para la simulación de trayectorias de larvas de *Lutjanus peru* (a) y *Lutjanus argentiventris* (b) para el primer escenario (coordenadas después de la reducción de puntos).

b) Para compensar la falta de coordenadas de ocurrencias reales (principalmente para *L. peru*) se simuló un segundo escenario asumiendo una distribución continua, es decir con puntos de inicio de las trayectorias situados en el centroide de cada uno de los 115 polígonos [algunos puntos fueron movidos debido a que no había datos de corrientes tan cerca de la costa (Figura 7)]. A partir de cada centroide se simularon 60 trayectorias (6900 trayectorias en total por cada estación

del año), con fecha de inicio aleatoria y hora fija a las 18:00 h (mismos criterios que para el primer escenario). Cada una se simuló por 30 días. Cabe mencionar que para *L. peru* solo se tomaron en cuenta los centroides a partir de Bahía Magdalena (por su distribución).



**Figura 7.** Puntos de inicio de las trayectorias para el escenario de distribución continua (segundo escenario de simulación) de *Lutjanus argentiventris* y *L. peru* (a partir de Bahía Magdalena).

c) El tercer escenario de simulación consistió en tomar en cuenta las trayectorias generadas en el escenario de distribución continua (segundo escenario) acotando la información a la temporada de desove de *L. peru* (13,012 trayectorias en total) y *L. argentiventris* (15,433 trayectorias) a lo largo de todo su rango de distribución de la siguiente manera (Tabla 2):

**Tabla 2.** Temporada reproductiva de *Lutjanus peru* y *L. argentiventris* a lo largo de su rango de distribución. Nayarit (NAY), Jalisco (JAL), Colima (CMA), Revillagigedo (REV), Michoacán (MIC), Guerrero (GUE), Chiapas (CHI), Pacífico (PAC), Golfo de California-península (GC-PEN), Golfo de California-continente (GC-CON), El Salvador (ES), Nicaragua (NIC), Costa Rica (CR), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

Especie	Zona	Temporada 1	Temporada 2	Temporada 3
	Zona A	May – Jul	Sep – Nov	
	Zona B (NAY-JAL)	Mar – Jun	Ago - Sep	Nov - Dic
L. peru	Zona B (CMA-REV)	Nov – Jun	Ago - Sep	
	Zona B (MIC)	Abr – May	Ago – Dic	
	Zona B (GUE-CHI)	Mar – May	Jul – Sep	
	Zona C	Enero - Ab		
	Zona A (PAC)	May – Sep		
	Zona A (GC-PEN)	May – Sep		
	Zona A (GC-CON)	Nov – Mar	Jul – Oct	
L. argentiventris	Zona B	Feb – Abr	Jul – Nov	
	Zona C (ES-NIC)	Sep – Ene		
	Zona C (CR-PAN)	Ene - Dic		
	Zona C (COL)	Nov – Dic	May - Ago	

Información tomada de: Sala et al. (2003); Santamaría-Miranda et al. (2003); Durán-Oliva (2004); Rojas et al. (2004); Trejos-Castillo et al. (2007); Aburto-Oropeza et al. (2009); Piñón et al. (2009); Erisman et al. (2010); Gallardo-Cabello et al. (2010); Barbosa-Ortega et al. (2013); Tinhan et al. (2014); Zárate-Becerra et al. (2014); Vega et al.(2016); Martínez-Pinto (2017).

## 4.5.3. Post-procesamiento de datos y análisis

Una vez realizadas las corridas para los tres diferentes escenarios, se realizó un corte de información a 15 días de deriva, tiempo en que las larvas de Lutjanidos están en el estadio de flexión y no tienen la capacidad para superar corrientes mayores a 0.1 m/s (Stobutzki & Bellwood 1997; Fisher et al. 2000; Leis et al. 2007; Abdo de la Parra et al. 2015), es decir, la larva se puede considerar como partícula inerte durante este periodo, sin embargo el periodo larval finaliza a los 30 días (Claro & Lindeman 2008). La DLP puede variar a lo largo de la distribución de ambas especies, principalmente por cambios en la temperatura del mar (Rojas et al. 2004; Trejos-Castillo et al. 2007; Piñón et al. 2009; Erisman et al. 2010; Gallardo-Cabello et al. 2010; Zárate-Becerra et al. 2014; Vega et al. 2016). Por esta razón se trabajó con ambos periodos (15 y 30 días).

Con el fin de observar la circulación general oceánica, se realizaron mapas de la circulación de las corrientes por zonas (A, B y C), en donde se calculó (utilizando MATLAB) el promedio por pixeles de los datos de velocidad de corrientes U y V para las cuatro estaciones del año: invierno (diciembre 2016 – febrero 2017), primavera (marzo – mayo 2017), verano (junio – agosto 2017) y otoño (septiembre – noviembre 2017).

Para visualizar los polígonos de origen y destino para los periodos de deriva de 30 y 15 días, se realizaron matrices de conectividad con el programa MATLAB R2021a.

Por otra parte se utilizó un enfoque teórico de gráficas (Treml et al. 2008; Munguia-Vega et al. 2014) con el fin de construir una red espacial con nodos conectados entre sí, representando la fuente y el destino de las trayectorias modeladas para los tres escenarios simulados. Los patrones de conectividad fueron representados espacialmente utilizando ArcGIS 10.5. Para los tres escenarios, se utilizaron las coordenadas de salida y de llegada de los centroides (como nodos) y las conexiones entre los centroides representaron el porcentaje de trayectorias que lograron llegar a otros polígonos.

# 4.6. Búsqueda e identificación de polimorfismos de una base (SNP´s) mediante el secuenciado de ADN asociado a la doble digestión de enzimas de restricción (ddRADseq)

Se desarrolló una librería genómica únicamente para *L. peru* con la técnica de *ddRADseq* siguiendo el protocolo de Peterson *et al.* (2012), la cual consta cinco pasos: 1) extracción y verificación de la calidad y cantidad de ADN genómico, 2) doble digestión, 3) ligación de adaptadores únicos o barcodes, 4) selección de fragmentos e 5) incorporación de index. Todo el proceso se llevó a cabo dentro de una campana esterilizada.

#### 4.6.1. Calidad y cantidad de ADN genómico

Se utilizó el ADN extraído de *L. peru* de las localidades de Conquista Agraria (30 individuos), Isla Espíritu Santo (30), Nayarit (30), Colima (30), Oaxaca (31) y Panamá (23), cabe señalar que se tomaron nuevas muestras de Isla Espíritu Santo y Conquista Agraria en el 2020.

El ADN previamente extraído se verificó en un gel de agarosa al 1.5% para verificar la calidad y se cuantificó en un Qubit (Thermo Fisher Scientific). Las muestras con 1500 ng totales en adelante y con ADN genómico de alto peso molecular fueron candidatas para ser limpiadas con perlas magnéticas AMPure XP (Beckman Coulter) (Anexo 1) a una proporción de 0.4X, si presentaban un barrido de fragmentos pequeños.

#### 4.6.2. Doble digestión

La doble digestión consistió en la hidrólisis del ADN de alto peso molecular por medio de dos enzimas de restricción, en este caso se utilizó una enzima de corte raro, *Eco*RI-HF con extremo cohesivo 5´-G|AATTC-3´ y una enzima de corte frecuente, *Msp*I con extremo cohesivo 5´-C|CGG-3´. Para un volumen final por reacción de 50 µl, se agregó 1µl de MspI y EcoRI-HF, 5µl de Buffer Cutsmart a 10X y el resto de ADN. Las reacciones se incubaron a 37°C por 3 horas para asegurar la completa digestión y se mantuvieron a 4°C por 5 minutos. Después se realizó una limpieza con perlas a una proporción de 1.8X para limpiar fragmentos menores a 100pb y el ADN se resuspendió en 35 µl. El ADN se cuantificó en un Qubit (Thermo Fisher Scientific).

#### 4.6.3. Ligación de adaptadores

Primero fue necesario hibridar los adaptadores con su cadena complementaria ya que se encontraban en forma de cadena sencilla de ADN. Se utilizó un set de 48 pares de adaptadores (P1.1 y P1.2) los cuales contienen un *barcode* único que se adhiere al extremo cohesivo de la enzima *Eco*RI-HF y un

adaptador común (P2.1 y P2.2) que se adhiere al extremo cohesivo de la enzima *Msp*l.

Para la hibridación de los adaptadores, se preparó una solución amortiguadora de alineamiento a 10X (100mM Tris HCL pH 8, 500mM NaCl y 10mM EDTA). Posteriormente se colocaron los 48 pares de adaptadores individuales (P1.1 y P1.2) y el adaptador común (P2.1 y P2.2) en tubos separados. Se agregó a cada adaptador la solución de amortiguamiento de alineamiento a una concentración final de 1× y agua grado molecular. Se hibridaron en un termociclador a 97.5°C por 2.5 min, se bajó la temperatura 1°C cada minuto hasta llegar a los 21°C, después pasó por un proceso de enfriamiento y se mantuvo a 4°C por 5 min.

El siguiente paso fue hacer una solución de trabajo para cada uno de los adaptadores (48 individuales y el común), la cual se calculó basándose en la masa del ADN y la frecuencia de corte de las enzimas de restricción. Esto para lograr que el ADN tuviera un exceso (10x) de adaptadores y que todos los fragmentos alcanzaran a ligarse (Anexo 2).

Finalmente, para la ligación de adaptadores, en un volumen final de 40  $\mu$ L por reacción, se agregaron 4  $\mu$ L de Buffer ligasa T4 (10×), 0.25  $\mu$ L ligasa T4, 2 $\mu$ L de adaptador P2 (adaptador común) y agua grado molecular. En un tubo separado se agregaron 2 $\mu$ L del adaptador individual P1 y el resto de ADN (30  $\mu$ L). Las reacciones se incubaron a temperatura ambiente toda la noche, posteriormente se realizó la inactivación de la enzima ligasa en el termociclador a 65°C durante 10 min con un enfriamiento a 2°C por 2 min.

Para evaluar la correcta ligación de los adaptadores a las muestras se realizó una PCR a partir de los productos ligados. Se añadieron los iniciadores PCR1 F (5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTCTTTCCCTACACGACG-3<sup>()</sup> el cual se adhiere al marcador individual У el iniciador PCR2 R (5'-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATCGTGATGTGACTGGAGTTCAGACGTGTG C-3) que se une al marcador común. La concentración final por reacción fue: Buffer 1x, dNTP's 0.3 mM, MgCl<sub>2</sub> 2.25 mM, iniciador PCR1 y PCR2 0.3 µM y Taq Platinum

27

invitrogen 0.3 U/ $\mu$ L. Las condiciones de PCR: desnaturalización a 94°C por 3 min, 34 ciclos de 94°C por 30 s, alineamiento de los adaptadores a 67°C por 30 s, 72°C por 45 s extensión final de 72°C por 5 min y mantener a 4°C por 1 min. Los productos de PCR se verificaron en un gel de agarosa al 1.5%.

Una vez verificada la ligación, se realizó una purificación con perlas magnéticas AMPure XP (Beckman Coulter) a una proporción de  $1.8 \times$  para limpiar fragmentos menores de 100pb. Solamente los productos de ADN ligado que fueran a ser revisados en gel de agarosa al 1.5% se resuspendieron en 37 µL, el resto de las muestras fueron resuspendidas en 33 µL. Finalmente las muestras se cuantificaron en un Qubit.

#### 4.6.4. Selección de tamaño

Se realizó una agrupación previa a la selección de tamaño en donde el ADN de todos los individuos etiquetados con su *barcode* único se mezclaron en concentraciones equimolares (30 ng totales por muestra) para crear un *pool.* Cada *pool* consistió en la mezcla de 48 individuos. En este caso se formaron 4 *pools*, 3 con 48 *barcodes* y 1 *pool* con 30 *barcodes*. Cada *pool* fue purificado con perlas a una concentración de 1.5× para concentrar el ADN. Cada *pool* fue resuspendido en 35  $\mu$ L en agua grado molecular y se midió su concentración en Qubit.

La selección de tamaño se llevó a cabo en un Pippin Prep (Sage Science), en el cual se hizo una selección automatizada en gel. El rango de tamaño que se seleccionó fue de 326 pb a 426 pb donde el ADN objetivo fue de 376 pb debido a que la longitud de los fragmentos de ADN se incrementó por los adaptadores P1 y P2. Una vez que la selección de tamaño concluyó se leyó la concentración de cada *pool* en Qubit.

#### 4.6.5. Incorporación de index

A los *pools* que se recuperaron de la selección de tamaño se les adicionó un adaptador Illumina forward y reverse por medio de una PCR. El adaptador Illumina

reverse incluye un *index* único con el fin de identificar a los *pools*: PCR2\_Idx1\_ATCACG, PCR2\_Idx8\_ACTTGA, PCR2\_Idx10\_TAGCTT y PCR2\_Idx11\_GGCTAC. Cabe resaltar que se eligieron adaptadores que estuvieran balanceados entre sí con respecto al contenido de bases GC.

Para la amplificación de los *pools* por medio de una PCR, cada pool se dividió en 8 alícuotas. En un volumen final por reacción de 25  $\mu$ L, se utilizaron 5  $\mu$ L de ADN de cada *pool*, 5  $\mu$ L de buffer 5× Phusion High-Fidelity, 1  $\mu$ L de dNTP's a 10 mM, 1.25  $\mu$ L de adaptador Illumina forward y reverse a 10 mM y 0.3  $\mu$ L de Taq Phusion High-Fidelity (ThermoFisher). Las condiciones de PCR fueron: desnaturalización de ADN a 98°C por 3 min, 15 ciclos de 98°C por 30 s, acoplamiento de adaptadores a 60°C por 30 s y 72°C por 45 s, seguido de una extensión final a 72°C por 5 min y un enfriamiento de la reacción a 12°C por 10 min.

Para corroborar que los *pools* tuvieran el tamaño en pares de bases adecuado (475 pb), se realizó una electroforesis en un gel de agarosa al 1.5%. Una vez que el tamaño se confirmó, las 8 reacciones de PCR por cada *pool* fueron concentradas haciendo una purificación con perlas a una proporción de 1.5× y resuspendidas en 40 µL en agua grado molecular; posteriormente se midió la concentración de ADN de los *pools* con un Qubit y se realizó una electroforesis para verificar que los restos de dNTP's e iniciadores hubieran sido eliminados en la limpieza con perlas.

Finalmente, para obtener la librería, se combinaron los 4 *pools* a concentraciones equimolares. Las librerías se mandaron a secuenciar en un secuenciador Illumina HiSeqX (NovoGene, EE.UU.), en un carril de secuenciado con lecturas pareadas de 150 pb.

# 5. Resultados

# 5.1. Microsatélites

# 5.1.1. Diversidad genética

Para *L. peru* los valores promedio del número de alelos (12.9 - 19.5), número de alelos efectivo (8.1 - 12.2), alelos privados (0.1 - 1.2), la heterocigocidad esperada (0.757 - 0.843) y observada (0.805 - 0.886) mostraron valores ligeramente más altos en el GC (Isla Espíritu Santo, San Bruno, Guaymas y Topolobampo) y Conquista Agraria, que para el resto de POT (Tabla 4). En general, en México, *L. peru* resultó con mayor diversidad genética que Panamá y Colombia. Sin embargo, los índices de diversidad no presentaron diferencias significativas entre localidades después de la prueba de Kruskal-Wallis (*Na* p = 0.38; *Ne* p = 0.62; *Ho* p = 0.94, *He* p = 0.62).

**Tabla 3.** Promedio de diversidad genética para cada población con 13 microsatélites para *Lutjanus peru*. Tamaño de muestra (*N*), número de alelos (*Na*), número de alelos efectivos (*Naf*), número de alelos privado (*Pa*), heterocigocidad observada (*Ho*) y esperada (*He*). La diversidad global toma en cuenta todas las localidades como una sola población. CAA = Conquista Agraria, SBO = San Bruno, LTO = Loreto, IES = Isla Espíritu Santo, GUA = Guaymas, TOP = Topolobampo, NAY = Nayarit, OAX = Oaxaca, PAN= Panamá y COL = Colombia.

Localidad	Ν	Na	Naf	Pa	Но	Не
CAA	43.5	19.5	11.9	1.2	0.843	0.886
SBO	42.3	17.8	10.6	0.3	0.818	0.872
LTO	40.8	18.0	11.1	0.7	0.838	0.877
IES	46.7	18.2	11.0	0.4	0.803	0.873
GUA	40.7	19.3	12.2	0.7	0.832	0.885
ТОР	40.2	17.0	11.1	0.2	0.832	0.873
NAY	47.4	17.5	10.5	0.3	0.799	0.845
OAX	45.4	16.9	10.2	0.3	0.757	0.853
PAN	25.5	13.8	8.7	0.1	0.789	0.831
COL	23.3	12.9	8.1	0.1	0.797	0.805
Diversidad global (13 loci)	395.7	26.8	12.9	-	0.811	0.885

Después de las pruebas de desviación de EHW, de 140 pruebas, 31 combinaciones (locus vs. localidad) fueron estadísticamente significativas después del ajuste secuencial de Bonferroni [p < 0.0038 (CA, LTO, GUA y TOP) y p < 0.005 (SBO, IES, NAY, OAX, PAN y COL) (Anexo 5)]. Con lo que respecta a las pruebas de EL, de las 91 pruebas, 2 combinaciones (*Lupe63-Hogu25* de Loreto y *Lupe39-Lgut34* de Colombia) fueron estadísticamente significativas después del ajuste secuencial de Bonferroni (p < 0.0005).

Se encontró evidencia de alelos nulos en todos los microsatélites (-0.33 a 0.42 de rango de frecuencia), sin embargo, estas no fueron consistentes en todas las poblaciones. *Lupe65, Lgut21, Hogu25* y *Lgut15* presentaron frecuencias altas de alelos nulos. Sin embargo, solamente *Lgut15* presentó alelos nulos en todas las localidades y por esta razón fue removido de la base de datos. Por lo tanto, los siguientes análisis fueron realizados con 13 marcadores microsatelitales (Anexo 5).

Con respecto a *L. argentiventris*, el microsatélite *Lupe34* fue removido de la base de datos debido a que presentó un patrón de pico sin una estructura clara y una intensidad muy baja de amplificación en las muestras de Colima, por lo tanto los siguientes análisis para esta especie fueron realizados con 11 microsatélites.

Los valores promedio del número de alelos (9.4 - 11.2), alelos efectivos (5.3 - 5.9), alelos privados (0.3 - 1.5), la heterocigocidad observada (0.651 - 0.774) y esperada (0.704 - 0.755), mostraron niveles medios de diversidad genética. El *Naf* y la *Ho* no presentaron un patrón latitudinal claro, solamente el *Na* mostró valores ligeramente más altos en el GC [Isla Espíritu Santo, San Bruno y Altata (Tabla 4)].

**Tabla 4.** Promedio de diversidad genética para cada población con 11 microsatélites para *Lutjanus argentiventris*. Tamaño de muestra (*N*), número de alelos (*Na*), número de alelos efectivos (*Naf*), número de alelos privados (*Pa*), heterocigocidad observada (*Ho*) y esperada (*He*). La diversidad global toma en cuenta todas las localidades como una sola población. Conquista Agraria (CA), San Bruno (SBO), Isla Espíritu Santo (IES), Altata (ALT), Colima (CMA) y Panamá (PAN).

Localidad	N	Na	Naf	Ра	Но	Не
SBO	35.5	10.8	5.4	1.5	0.655	0.704
IES	24.4	10.0	5.3	0.5	0.690	0.719
ALT	30.8	11.2	5.9	1.5	0.677	0.715
СМА	26.5	9.4	5.5	0.5	0.651	0.706
PAN	22.9	9.5	5.9	0.3	0.774	0.755
Diversidad global (11 loci)	139.8	17.2	7.1	-	0.704	7.757

Después de las pruebas de EHW, cuatro combinaciones (locus vs. localidad) de 60 presentaron desviaciones significativas después del ajuste secuencial de Bonferroni (p < 0.03) (Anexo 6). De las 66 pruebas de EL para cada localidad, solamente una combinación de loci (*Lupe44 – Larg27* de San Bruno) estuvieron en desequilibrio de ligamiento (p < 0.005). Finalmente, se detectó evidencia de alelos nulos en algunas localidades (-0.31 a 0.17 rango de frecuencia), siendo *Lupe61* el microsatélite con la mayor frecuencia.

#### 5.1.2. Estructura genética poblacional

El poder estadístico de los 13 marcadores microsatelitales de *Lutjanus peru* para un  $F_{ST}$  predeterminado de 0.008 y de los 11 microsatélites de *Lutjanus argentiventris* para un  $F_{ST}$  predeterminado de 0.009 fue de 100% para ambos casos.

La distribución de las frecuencias alélicas de *L. peru* entre cada par de localidades fueron significativamente diferentes después del ajuste secuencial de Bonferroni (p < 0.002). Sin embargo, la distribución de las frecuencias alélicas en la mayoría localidades dentro de GC y Conquista Agraria fueron no significativas, solo algunas excepciones fueron detectadas entre Isla Espíritu Santo y Guaymas (p = 0.0003), Isla Espíritu Santo y Loreto (p = 0.0006) e Isla Espíritu Santo y Topolobampo (p = 0.0009).

El AMOVA global para *L. peru* con ( $F_{ST} = 0.0148$ , p = 0) y sin ( $F_{ST} = 0.0159$ , p = 0) los tres loci con altas frecuencias de alelos nulos (*Lupe65, Lgut21, Hogu25*), no mostraron diferencias significativas. Por tal motivo, los análisis subsecuentes se realizaron con los 13 marcadores microsatelitales. Los  $F_{ST}$  pareados entre localidades distantes mostraron diferencias significativas en un rango de 0.009 a 0.034. Sin embargo, los  $F_{ST}$  pareados entre localidades del GC (San Bruno, Loreto, Isla Espíritu Santo, Guaymas y Topolobampo) y Pacífico adyacente (Conquista Agraria) no mostraron diferencias significativas ( $F_{ST} = 0.0019$ , p = 0.76) (Tabla 5).

A su vez, el AMOVA jerárquico entre los cuatro grupos (1 = Conquista Agraria, San Bruno, Loreto, Isla Espíritu Santo, Guaymas y Topolobampo; 2 = Nayarit; 3 = Oaxaca y 4= Panamá y Colombia) también mostró diferencias significativas [ $F_{ST}$ = 0.0225, p = 0 (Anexo 3)].

**Tabla 5.**  $F_{ST}$ pareado de *Lutjanus peru* con 13 loci. Arriba de la diagonal discontinua se encuentran los valores de  $F_{ST}$ y debajo de ésta los valores de *p*. Los asteriscos representan los valores significativos de *p* y  $F_{ST}$ . Conquista Agraria (CAA), San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

	CAA	SBO	LTO	IES	GUA	TOP	NAY	ΟΑΧ	PAN	COL
CAA	-	-0.0002	-0.0005	-0.0002	0.0009	0.0011	0.0269*	0.0211*	0.0227*	0.0305*
SBO	0.6939	-	0.0018	0.0014	0.0017	0.0057	0.0278*	0.0207*	0.0200*	0.0328*
LTO	0.7342	0.2341	-	0.0020	0.0003	-0.0001	0.0265*	0.0223*	0.0255*	0.0344*
IES	0.7347	0.3291	0.2197	-	0.0042	0.0032	0.0287*	0.0210*	0.0224*	0.0295*
GUA	0.4133	0.2626	0.5783	0.0325	-	0.0029	0.0236*	0.0173*	0.0206*	0.0301*
ТОР	0.3450	0.0044	0.6358	0.0750	0.1031	-	0.0228*	0.0228*	0.0229*	0.0324*
NAY	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	-	0.0088*	0.0123*	0.0246*
ΟΑΧ	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0001*	-	0.0053	0.0193*
PAN	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0633	-	0.0051
COL	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0796	-
	*p < 0.00	)44								

La distribución de las frecuencias alélicas para *L. argentiventris*, entre la mayoría de los pares de localidades fueron estadísticamente significativas después del ajuste secuencial de Bonferroni (p < 0.023), sin embargo, se encontró una excepción entre las localidades de Isla Espíritu Santo – Altata (p = 0.11). Los índices de diversidad no presentaron diferencias significativas después de la prueba de Kruskal-Wallis (*Na* p = 0.93; *Ne* p = 0.99; *Ho* p = 0.85, *He* = 0.99).

El AMOVA global con ( $F_{ST}$ = 0.017, p = 0) y sin ( $F_{ST}$ = 0.019, p = 0) el locus con frecuencia de alelos nulos (*Lupe61*) no mostraron diferencias significativas. Por lo tanto, los 11 loci microsatelitales fueron usados en los siguientes análisis. Los valores de  $F_{ST}$  pareados fluctuaron entre 0.005 a 0.037; las localidades dentro del GC (San Bruno, Isla Espíritu Santo y Altata) mostraron estructura genética ( $F_{ST}$ = 0.012, p = 0), con la excepción del par de localidades de Isla Espíritu Santo - Altata, que fueron las localidades geográficamente más cercanas (Tabla 6).

El AMOVA jerárquico entre los 4 grupos (1 = San Bruno; 2 = Isla Espíritu Santo y Altata; 3 = Colima; 4 = Panamá) también mostró diferencias significativas  $[F_{ST}= 0.019, p = 0 \text{ (Anexo 4)]}.$ 

Tabla 6. Fst pareado de Lutjanus argentiventris con 11 loci. Arriba de la diagonal
discontinua se encuentran los valores de Fsry debajo de ésta los valores de p. Los
asteriscos representan los valores significativos de p y de Fsrpareados. San Bruno
(SBO), Isla Espíritu Santo (IES), Altata (ALT), Colima (CMA) y Panamá (PAN).

	SBO	IES	ALT	СМА	PAN
SBO	-	0.0235*	0.0093*	0.0062	0.0278*
IES	0.0000*	-	0.0054	0.0189*	0.0370*
ALT	0.0153*	0.1164	-	0.0061	0.0249*
CMA	0.0874	0.0009*	0.1003	-	0.0273*
PAN	0.0000*	0.0000*	0.0000*	0.0000*	-
	*p < 0.015				

Por otra parte, para *L. peru*, el análisis con STRUCTURE sugirió que las poblaciones estaban distribuidas en cuatro grupos genéticos. Sin embargo, en la figura solo se puede apreciar una marcada diferencia entre Topolobampo y Nayarit, mostrando así que muy probablemente las poblaciones están distribuidas en dos grupos genéticos [1 = Conquista Agraria, San Bruno, Loreto, Isla Espíritu Santo, Guaymas y Topolobampo; 2 = Nayarit, Oaxaca, Panamá y Colombia (Figura 8)].



**Figura 8.** Coeficiente de membresía promedio de *Lutjanus peru.* Conquista Agraria (CAA), San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

Con este análisis se obtuvieron resultados similares a los del algoritmo de Monmonier, detectando una barrera para la conectividad situada entre el GC y Nayarit (Figura 9).



**Figura 9.** Barrera para la conectividad obtenidas con el algoritmo de máxima diferenciación de Monmonier para *Lutjanus peru*. San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Conquista Agraria (CAA), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

Para *L. argentiventris* el análisis con STRUCTURE sugirió la formación de dos grupos genéticos bien mezclados en todas las localidades (Figura 10).



**Figura 10.** Coeficiente de membresía promedio de *Lutjanus argentiventris.* San Bruno (SBO), Isla Espíritu Santo (IES), Altata (ALT), Colima (CMA) y Panamá (PAN).

Sin embargo, el algoritmo de máxima diferenciación de Monmonier detectó una barrera para la conectividad entre Colima y Panamá (Figura 11).



**Figura 11.** Barreras para la conectividad obtenidas con el algoritmo de máxima diferenciación de Monmonier para *Lutjanus argentiventris*. San Bruno (SBO), Isla Espíritu Santo (IES), Altata (ALT), Colima (CMA) y Panamá (PAN).

El análisis de discriminantes de componentes principales (DAPC) para *L. peru* mostró tres grupos con sus respectivas probabilidades de membresía. El primer grupo se conformó por Conquista Agraria (p = 0.57) y las localidades dentro del GC, como San Bruno (p = 0.84), Loreto (p = 0.73), Isla Espíritu Santo (p = 0.7), Guaymas (p = 0.71) y Topolobampo (p = 0.8); el segundo grupo estuvo conformado por Nayarit (p = 0.89) y Oaxaca (p = 0.89), mientras que el tercero por Panamá (p =0.81) y Colombia (p = 0.87) (Figura 12a). Para *L. argentiventris* el DAPC igualmente mostró tres grupos. El primer grupo se conformó por Isla Espíritu Santo (p = 0.88) y Altata (p = 0.84), el segundo grupo por Colima (p = 0.92) y San Bruno (p = 0.91), donde Colima compartió genotipos con Altata y el tercer grupo por Panamá (p =0.78) (Figura 11b).



**Figura 12.** Análisis de discriminantes de componentes principales (DAPC) para *Lutjanus peru* (a) y *L. argentiventris* (b). San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Conquista Agraria (CAA), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN), Colombia (COL), Altata (ALT) y Colima (CMA).

Por otra parte, las pruebas de Mantel, para *L. peru* indicaron aislamiento por distancia a escala del POT >2500 km ( $r^2 = 0.51$ , p = 0.0007), mostrando fuerte relación lineal entre la distancia geográfica y la genética (Figura 13a). Sin embargo, a escala de México (<250 km), el aislamiento por distancia no fue significativo ( $r^2 = 0.52$ , p = 1) (Figura 13b). El mismo patrón se observó para *L. argentiventris*, a escala del POT se observó asilamiento por distancia ( $r^2 = 0.52$ , p = 0.07) (Figura 13c), mientras que para México fue no significativo ( $r^2 = 0.01$ , p = 1) (Figura 13d).



**Figura 13.** Pruebas de Mantel en *Lutjanus peru* (arriba) y *Lutjanus argentiventris* (abajo). En los paneles a) y c) se muestra el aislamiento por distancia en todas las localidades del área de estudio, en el b) sin Panamá y Colombia y en el d) sin Panamá.

Con respecto al flujo genético basado en alelos privados, para *L. peru*, las localidades de México tuvieron mayor flujo genético entre ellas (Nm = 25 - 55) que para Panamá (Nm = 5) y Colombia (Nm = 17). Para *L. argentiventris*, las localidades dentro del GC (San Bruno, Isla Espíritu Santo y Altata), mostraron mayor flujo genético (Nm = 17 - 24) que Colima (Nm = 14) y Panamá (Nm = 15) (Tabla 7).

**Tabla 7.** Flujo genético basado en alelos privados para *Lutjanus peru* y *Lutjanus argentiventris*. Número de migrantes (*Nm*), Conquista Agraria (CAA), San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN), Colombia (COL), Altata (ALT) y Colima (CMA).

Especie	Localidad	Nm
	CAA	55
	SBO	52
	LTO	49
	IES	25
	GUA	39
L. peru	TOP	46
	NAY	43
	OAX	39
	PAN	5
	COL	17
	SBO	24
	IES	17
L. argentiventris	ALT	17
	CMA	14
	PAN	15

Las tasas de migración basadas en el método Bayesiano, para *L. peru*, indicaron que del 25 al 27% de individuos de las localidades dentro del GC fueron migrantes, donde Isla Espíritu Santo fue un importante exportador. Oaxaca compartió migrantes con Nayarit (27%) y Panamá (25%), mientras que Panamá los compartió con Colombia (25%). Se apreció una interrupción en el flujo genético entre Topolobampo y Nayarit (Figura 14a). Para *L. argentiventris* las tasas de migración no mostraron un patrón claro (Figura 14b).



**Figura 14.** Proporción de migrantes obtenidas con BayessAss basado en un método Bayesiano. a) *Lutjanus peru*, b) *Lutjanus argentiventris.* 

#### 5.2. Distribución de hábitat y modelación de nicho ecológico

La distribución de los arrecifes rocosos acotados a la isóbata de los 100 m para *L. peru* estuvieron conformados por 8 parches de hábitat. Los parches más importantes se ubicaron en el Golfo de California, parte sur del estado de Sinaloa, norte de Jalisco y entre Costa Rica y Panamá. Estas áreas estuvieron bien conectadas entre arrecifes rocosos en una escala de aproximadamente 1000 km. En este sentido, las áreas más importantes en extensión donde se presentaron discontinuidades de hábitat estuvieron situadas entre el estado de Jalisco y Michoacán, con una extensión de 400 km y entre el estado de Guerrero (México) y El Salvador (Centroamérica), con una extensión aproximada de 1500 km. También se presentaron algunas discontinuidades menores con una extensión entre 150 a 300 km (Figura 15).



**Figura 15.** Distribución de arrecife rocoso acotado a la isóbata de 100 m para *L. peru*. a) parches de arrecife que están conectados por una distancia máxima de 150 km; las líneas de colores en este panel representan los diferentes parches hábitat rocoso y b) distribución de los arrecifes rocosos acotado a 100 m.

La distribución del fondo blando acotado a 100 m estuvo conformada por dos grandes parches, uno desde México hasta la parte norte de Costa Rica y otro desde Panamá hasta Colombia. Solo una discontinuidad en el hábitat fue detectada entre la parte norte de Costa Rica y el norte de Panamá, con una extensión de 320 km (Figura 16).



**Figura 16.** Distribución de hábitat de fondo blando acotado a la isóbata de 100 m para *L. peru*. a) parches de fondo blando que están conectados por una distancia máxima de 150 km; las líneas de colores en este panel representan diferentes parches de fondo blando y b) distribución del fondo blando acotado a 100 m.

Para *L. argentiventris*, la distribución de los arrecifes rocosos acotado a la isóbata de los 60 m estuvo conformada por 9 parches de hábitats. Los parches más importantes se observaron en el GC, entre Sinaloa y Nayarit y desde el sur de Costa Rica hasta Panamá. Los tamaños de los parches fueron de cientos a aproximadamente 1000 km. Las discontinuidades en el hábitat más importantes mostraron un patrón similar que *L. peru*, desde Jalisco hasta Michoacán y desde Guerrero hasta El Salvador. Algunas discontinuidades menores estuvieron presentes con una extensión entre 150 a 320 km (Figura 17).



**Figura 17.** Distribución de hábitat rocoso acotado a la isóbata de 60 m para *L. argentiventris.* a) parches de arrecife que están conectados por una distancia máxima de 150 km; las líneas de colores en este panel representan diferentes parches de arrecife rocoso y b) distribución de los arrecifes rocosos acotado a 60 m.

Los manglares no presentaron ninguna discontinuidad a lo largo del área de estudio, pero en el lado peninsular y en la parte media continental, dentro del GC, las áreas de los manglares fueron muy pequeñas (Figura 18)



**Figura 18.** Distribución de manglares acotado a la isóbata de 60 m para *L. argentiventris.* a) parche de manglar (verde) que está conectado por una distancia máxima de 150 km y b) distribución de los manglares.

Considerando la contribución de las variables ambientales en la probabilidad de ocurrencia de *L. peru*, las variables ambientales que contribuyeron más al análisis fueron la salinidad con 26.98%, clorofila-a 21.33%, fosfatos 16.88% y la concentración de oxígeno disuelto con el 15.65%. Se encontraron cinco regiones en donde la probabilidad de ocurrencia de la especie fue mayor: dos en la parte centro y sur del GC con una probabilidad de 0.6, entre Sinaloa y el norte de Jalisco con una probabilidad de ocurrencia de 0.96, entre Michoacán y Guerrero 0.74 y desde Oaxaca hasta Guatemala con probabilidades entre 0.52 a 0.86 (Figura 19a).

Para *L. argentiventris*, las variables ambientales que mejor explicaron la ocurrencia fueron los silicatos con 28.34%, clorofila-a 15.53%, salinidad 14.84%, pH 10.28% y la temperatura con 10.41%. Se encontraron cuatro regiones en donde la probabilidad de ocurrencia fue mayor: dos en la parte centro y sur del GC con probabilidades entre 0.72 a 0.79, una desde Nayarit hasta Colima con una probabilidad de 0.54 y otra desde Oaxaca hasta Guatemala con 0.9; entre Panamá y Colombia se encontró un parche de menor probabilidad [p = 0.3 (Figura 19b)].



**Figura 19.** Probabilidad de ocurrencia para a) *L. peru* y b) *L. argentiventris*. La barra de color representa la probabilidad de ocurrencia para ambas especies y los puntos negros son los registros de GBIF.

El análisis discriminante mostró que las seis ecoregiones (Transición de Magdalena, Cortés, Pacífico Tropical Mexicano, Chiapas-Nicaragua, Nicoya y la ensenada de Panamá) tuvieron diferencias significativas entre ellas. El primer canónico explicó el 78.12% de la varianza y el segundo el 16.84% y juntos explicaron el 94.96% de la varianza. Las principales variables ambientales que explicaron las diferencias entre las ecoregiones fueron el pH, la clorofila y la salinidad (Figura 20; Tabla 8).



**Figura 20.** Análisis de discriminante para el área de distribución de *Lutjanus peru* y *Lutjanus argentiventris*. Transición de Magdalena (MaT), Cortés (Ctz), Pacífico Tropical Mexicano (MTP), Chiapas-Nicaragua (Ch-Ni), Nicoya (Nya) y ensenada de Panamá (PaB). Concentración de oxígeno disuelto (DOC), clorofila-a (ChI). Los puntos representan valores atípicos.

**Tabla 8**. Rango de variables ambientales en las ecoregiones de Transición de Magdalena (MaT), Cortés (Ctz), Pacífico Tropical Mexicano (MTP), Chiapas-Nicaragua (Ch-Ni), Nicoya (Nya) y ensenada de Panamá (PaB).

EcoRegión	рН	Chl-a (mg/m³)	Temperatura (°C)	Salinidad (PSS)	Fosfatos (mol/m³)
MaT	8.269 - 8.270	0.066 – 0.752	23.403 – 29.117	33.259 - 33.762	0.496 – 0.539
Ctz	8.207 - 8.287	0.063 - 0.342	21.849 – 27.552	30.450 - 35.597	0.365 – 0.777
MTP	8.206 - 8.261	0.134 – 0.545	27.395 – 29.117	32.060 - 33.762	0.318 – 0.539
Ch-Ni	8.101 – 8.206	0.269 – 0.758	27.597 – 29.466	31.155 – 33.188	0.250 - 0.459
Nya	7.999 – 8.101	0.325 – 0.752	27.542 – 28.756	30.952 - 32.406	0.294 – 0.396
PaB	7.959 – 8.015	0.303 – 0.553	27.099 – 27.775	28.859 - 31.064	0.281 – 0.455

# 5.3. Estimación de la conectividad basado en el modelo de circulación oceánica HYCOM

#### 5.3.1. Circulación oceánica

La circulación promedio a 30 m de profundidad para el Pacífico (zona A) se vio caracterizada por la Corriente de California con dirección predominante hacia el sur para las estaciones de invierno (diciembre 2016 – febrero 2017) y primavera (marzo 2017 – mayo 2017), donde se mantuvieron velocidades de 0.1 a 0.5 m/s en invierno y de 0.2 a 0.3 m/s durante primavera. En verano (junio 2017 – agosto 2017) se observó un periodo de transición en donde la intensidad de la Corriente de California disminuyó (0.1 – 0.2 m/s) y durante otoño (septiembre 2017 – noviembre 2017) cambió de dirección hacia el norte donde se mantuvieron velocidades de 0.1 a 0.2 m/s. En el GC, durante invierno, se observó la formación de un remolino anticiclónico en el Alto Golfo de California y dos ciclónicos en la parte central, el rango de velocidades observado para el área fue de 0.1 a 0.5 m/s, donde los remolinos presentaron las mayores velocidades. Durante primavera se formaron dos remolinos más en el Sur del Golfo de California, uno anticiclónico y otro ciclónico con velocidades aproximadas de 0.1 a 0.4 m/s. En verano el remolino del Alto Golfo de California se intensificó y cambió de dirección a ciclónico, los remolinos de la parte central y sur perdieron intensidad dando lugar a una circulación costera hacia el norte en la parte continental y hacia el sur en la parte peninsular, se observaron velocidades de 0.1 a 0.5 m/s. Otoño fue un periodo de transición en el que se observó solamente un remolino definido en la parte central del GC, la velocidad de las corrientes durante esta época osciló entre los 0.1 y 0.5 m/s (Figura 21).



**Figura 21**. Circulación de corrientes para la zona A durante a) invierno, b) primavera, c) verano y d) otoño. La barra en escala de grises representa la velocidad de las corrientes en m/s, así como el tamaño de las flechas.
La circulación de la zona B fue afectada principalmente por el la corriente costera Mexicana (CCM), la corriente costera de Costa Rica (CCCR), el tazon de Tehuantepec y remolinos de mesoescala. Durante invierno y primavera se observó la formación de un remolino ciclónico en el Golfo de Tehuantepec con velocidades paroximadas entre 0.3 a 0.4 m/s, en esta área se presentó una bifuración de la corriente hacia mar abierto debido al encuentro de la CCCR con el Tazón de Tehuantepec (TT). La CCM tuvo una dirección predominante hacia el norte con velocidades entre 0.1 a 0.2 m/s, sin embargo se vio interrumpida por el TT que generó un remolino ciclónico a la altura de Colima. Durante verano y otoño el remolino en el Golfo de Tehuantepec se debilitó (0.2 m/s), así como el TT, la dirección de la CCM se intensificó presentando velocidades de 0.1 a 0.4 m/s con dirección predominante hacia el norte. Sin embargo, en verano se obervó la formación de un remolino anticiclónico en Guerrero y para verano y otoño la formación de dipolo entre Nayarit y Jalisco (Figura 22).



Figura 22. Circulación de corrientes para la zona B durante a) invierno, b) primavera, c) verano y d) otoño. La barra en escala de grises representa la velocidad de las corrientes en m/s, así como el tamaño de las flechas.

En la zona C, durante las cuatro estaciones del año predominó CCCR, la corriente Colombiana (CC) con dirección predominante hacia el norte, así como la formación de un remolino en la ensenada de Panamá. La velocidad de la CCCR durante invierno y primavera osciló entre 0.3 y 0.8 m/s, mientras que la velocidad de la CC osicló entre 0.2 y 0.3 m/s. Durante verano y otoño ambas corrientes disminuyeron su velocidad y oscilaron entre 0.3 a 0.5 m/s para la CCCR y entre 0.1 a 0.2 m/s para la CC. Con lo que respecta al remolino en la ensenada de Panamá, durante invierno, primavera y verano el remolino presentó una dirección ciclónica con velocidades de 0.3 a 0.4 m/s y en otoño cambió la dirección a anticicónico con una velocidad aproximada de 0.2 m/s (Figura 23).



**Figura 23**. Circulación de corrientes para la zona C durante a) invierno, b) primavera, c) verano y d) otoño. La barra en escala de grises representa la velocidad de las corrientes en m/s, así como el tamaño de las flechas.

### 5.3.2. Primer escenario – coordenadas de los registros de ocurrencias

El transporte larval a 15 días de deriva encontrado en *L. peru,* se observó que la zona A presentó, en su mayoría, autoreclutamiento y conectividad con los polígonos más cercanos en las cuatro estaciones del año. Se observó transporte larval de continente a península en invierno, primavera y otoño donde arribaron de una a cuatro trayectorias a los polígonos de la península (de los polígonos 31 y 34 – 35 al 25 - 28); en verano el transporte se dio de la península al continente [polígono 26 al 36 (Figura 24a-d)]. El principal intercambio de trayectorias se dio en el Alto Golfo de California y en la región de las Grandes Islas. Para el periodo de 30 días se observó que el transporte larval entre península y continente aumentó entre polígonos, además de generarse conexiones entre la parte norte de Baja California Sur y sur de Sonora [polígonos 24 al 31 y 33 (Figura 25a-d)].

En la zona B, para ambos periodos de simulación, el transporte ocurrió sobre los polígonos vecinos. La cantidad de trayectorias que llegaron a otros polígonos mantuvo un rango de una a 20 trayectorias para la simulación de 15 días y de una a 17 para la simulación de 30 días. En las cuatro estaciones del año se observó trasporte larval de la zona B a la zona A [entre Nayarit y Sinaloa (del polígono 47 al 44 – 46)]. A su vez se identificó falta de transporte larval entre Guerrero y Oaxaca [polígonos 62 al 66 (Figura 24e-h; Figura 25e-h)]. La zona C presentó transporte larval entre los polígonos adyacentes, sin embargo, se identificaron varios polígonos sin transporte larval a lo largo de Centroamérica (Figura 24i-l; Figura 25i-l).



**Figura 24.** Matriz de conectividad de *Lutjanus peru* considerando 15 días de deriva. La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a los polígonos. Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California lado peninsular (GC-PEN), Golfo de California lado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY-CMA), Michoacán a Guerrero (MIC-GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX-CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA-CRA) y Panamá a Colombia (PAN-COL).



**Figura 25.** Matriz de conectividad de *Lutjanus peru* considerando 30 días de deriva. La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a los polígonos. Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California lado peninsular (GC-PEN), Golfo de California lado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY-CMA), Michoacán a Guerrero (MIC-GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX-CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA-CRA) y Panamá a Colombia (PAN-COL).

Por otro lado, los resultados de las redes presentes en las zonas analizadas para 15 y 30 días de DLP mostraron que para la zona A, la parte del Pacífico estuvo conformada por una sola red durante las cuatro estaciones del año con un porcentaje de trayectorias intercambiadas entre polígonos de 0.11 a 0.9% (Figura 26a, d, g, j) y 0.01 a 3.6%, respectivamente (Figura 27a, d, g, j); solamente a los 30 días de DLP durante invierno, la red incorporó la región sur del Golfo de California (península) (Figura 27a). En el Golfo de California se presentaron dos redes en primavera, tres en invierno y verano y de cuatro (15 días) a cinco (30 días) redes en otoño. El porcentaje de trayectorias entre polígonos fue de 0.61 al 2% sobre el total de trayectorias simuladas (Figura 26a, d, g, j) para el periodo de 15 días, mientras que para el periodo de 30 días del 0.01 a 3.6% de las trayectorias llegaron a los polígonos (Figura 27a, d, g, j). Se identificaron dos interrupciones constantes durante tres estaciones del año, uno a la mitad de Sonora y otro ente Sinaloa y Sonora. Tomando en cuenta el total de trayectorias simuladas, el porcentaje de conectividad para ambos periodos de DLP en la zona A fue del 9.2 al 17.5%, mientras que el porcentaje de autoreclutamiento osciló del 12 al 13.6%.

En la zona B, la simulación en la que se consideró una DLP de 15 días, mostró cinco redes en invierno y primavera y tres redes durante verano y otoño con un porcentaje de trayectorias compartidas entre polígonos de 0.61 a 3.6% (Figura 26b, e, h, k), mientras que para los 30 días se mostraron 3 redes en todo el año con un porcentaje de trayectorias entre polígonos de 0.01 a 3.6% (Figura 27a, d, g, j). Se resalta que durante las cuatro estaciones del año la zona A y la zona B compartieron una red en ambos periodos de deriva larval. Se encontraron cuatro interrupciones a lo largo del área para 15 días de deriva, aunque solo dos se mantuvieron durante todo el año, uno en el centro de México (Colima) y otro al sur (entre Guerrero y Oaxaca) (Figura 26b, e, h, k); a los 30 días de DLP se encontró un quiebre constante ubicado en el centro-sur de México, con una extensión de 1000 km de largo (Figura 27b, e, h, k). Del total de trayectoria simuladas, el porcentaje de conectividad los 15 y 30 días de DLP para la zona B fue del 12 al 15.7%, mientras que el porcentaje de autoreclutamiento osciló del 12 al 16.7%.

En zona C, la simulación en la que se consideró una DLP de 15 días, presentó cuatro redes en primavera, cinco en invierno y verano y seis durante otoño. Mostró ser una zona con grandes vacíos entre redes de casi 500 km de longitud, sobre todo entre la zona B y C; el porcentaje de conexiones entre redes osciló entre 0.61 y 3.6% (Figura 26c, f, i, l). A los 30 días, se presentaron tres redes en verano, cuatro en invierno y otoño y cinco en primavera con un porcentaje de trayectorias entre redes oscilando entre 0.01 a 2%. Se resalta que durante primavera, verano y otoño las regiones de Costa Rica, Nicaragua, Honduras y El Salvador estuvieron unidos por una subred (Figura 27f, i, l). Además, durante primavera la zona C y B compartieron una subred (Figura 27f). El porcentaje de conectividad para la zona C, considerando todas las trayectorias simuladas, osciló entre 1.4 y 5.4%, mientras que el autoreclutamiento estuvo entre 1.9 y 6.4%.

En general, el porcentaje de trayectorias que fueron contabilizadas para las simulaciones de 15 y 30 días de DLP osciló entre 59 y 68%, mientras que las trayectorias que terminaron fuera de los polígonos de conteo oscilaron entre 32 y 44%.



**Figura 26.** Redes formadas para *Lutjanus peru* presentes en invierno (a - c), primavera (d - f), verano (g - i) y otoño (j- l) para un periodo de 15 días de deriva larval. Los puntos rojos son los centroides, las líneas de colores representan las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C son la longitud de las redes.



**Figura 27.** Redes formadas para *Lutjanus peru* presentes invierno (a - c), primavera (d - f), verano (g - i) y otoño (j- l) para un periodo de 30 días de deriva larval. Los puntos rojos son los centroides, las líneas de colores representan las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C son la longitud de las redes.

En cuanto al transporte larval encontrado para *L. argentiventris* a los 15 días de DLP, se pudo observar que en la zona A hubo autoreclutamiento con un máximo de 18 trayectorias que permanecieron en el mismo polígono del cual salieron. También, fue posible observar transporte larval entre la península y el continente, y viceversa, durante las cuatro estaciones del año en la región de las Grandes Islas (de los polígonos 27 - 29 al 30 - 34; 35 - 39 al 24 - 25) y entre la parte norte de Baja California Sur y sur de Sonora [22 a 37 y 34 a 36 (Figura 28a-d)]. Para los 30 - 34; 41 - 37; de los polígonos 26 - 38 al 30 - 34 (Figura 29a-d)].

Para la zona B tanto para los 15 y 30 días de DLP se observó autoreclutamiento con un máximo de 20 trayectorias que no salieron del polígono de origen (Figura 28e-h; Figura 29e-h). Por otro lado, se observó transporte larval de la zona B a la zona A, es decir, desde Nayarit hacia la parte sur de Sinaloa (del polígono 47 al 44 – 46) durante las cuatro estaciones del año (Figura 28e-h; Figura 29e-h).

Se observó autoreclutamiento en la zona C para los dos periodos de deriva (15 y 30), a su vez, hubo transporte entre El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica (polígonos 79 al 84). También se observó transporte a lo largo de la ensenada de Panamá durante las cuatro estaciones del año, así como conexión desde la región de Colombia hacia la de Panamá en primavera (desde el polígono 105 al 100 – 104) para ambos periodos de deriva, con una o dos trayectorias llegando a los polígonos de Panamá (Figura 28i-l; Figura 29i-l).



**Figura 28.** Matriz de conectividad de *Lutjanus argentiventris* considerando15 días de deriva. La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a los polígonos. Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California lado peninsular (GC-PEN), Golfo de California lado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY-CMA), Michoacán a Guerrero (MIC-GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX-CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA-CRA) y Panamá a Colombia (PAN-COL).



**Figura 29**. Matriz de conectividad de *Lutjanus argentiventris* considerando 30 días de deriva. La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a los polígonos. Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California lado peninsular (GC-PEN), Golfo de California lado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY-CMA), Michoacán a Guerrero (MIC-GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX-CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA-CRA) y Panamá a Colombia (PAN-COL).

Por otro lado, los resultados de las redes para L. argentiventris a los 15 días de DLP mostraron que para la zona A (Pacífico), en la temporada de primavera se identificaron dos redes, en verano y otoño tres y en invierno cuatro, con un porcentaje de conexión entre polígonos de 0.06 a 3.6% a lo largo del año (Figura 30a, d, g, j). Para las simulaciones con 30 días de DLP se encontraron dos redes para primavera y tres para invierno, verano y otoño con un porcentaje de conexión entre polígonos que osciló entre 0.06 a 2% (Figura 31a, d, g, j). Cabe resaltar que durante invierno se observó que una red se compartió con el sur del Golfo de California (lado peninsular) para ambos periodos de deriva (Figura 30a, Figura 31a). Las redes dentro del Golfo de California para el periodo de 15 días de DLP estuvieron distribuidas en tres durante primavera y otoño y cuatro para invierno y verano (Figura 30a, d, g, j). Para los 30 días de DLP se encontraron dos redes en otoño, tres en invierno y verano y cuatro en primavera (Figura 31a, d, g, j). Para ambos periodos de deriva se encontró que durante otoño e invierno las regiones norte y centro del Golfo de California se mantuvieron conectadas por una red. A su vez, se observó una interrupción constante durante las cuatro temporadas del año entre Sonora y Sinaloa. Del total de trayectorias simuladas, el porcentaje de conectividad para ambos periodos de deriva, que se presentó en la zona A fue del 8.6 al 12%, mientras que las trayectorias que no salieron del polígono de origen oscilaron entre 10.5 y 13.8%

En la zona B para el periodo de 15 días de DLP se encontraron cinco redes en primavera, seis en invierno y verano y siete en otoño. El periodo de 30 días contó con cuatro redes en invierno y verano, cinco en primavera y seis en otoño. Para ambos periodos se observó conexión durante todo el año entre la zona A y la zona B, desde Sinaloa hasta Nayarit, así mismo se identificaron dos interrupciones constantes al norte (Jalisco) y al sur (Guerrero) de la zona B (Figura 30b, e, h, k; Figura 31b, e, h, k); el porcentaje de conexión entre polígonos fue de 0.06 a 3.6%. El porcentaje de conectividad para la zona B (ambos periodos de DLP), considerando todas las trayectorias simuladas, osciló entre 5.5 y 6.7%, mientras que el autoreclutamiento estuvo entre 7 y 10.3%. La zona C estuvo conformada por seis redes en invierno, primavera y verano y siete en otoño para el periodo de 15 días de DLP (Figura 30c, f, i, l), mientras que para el periodo de 30 días, se observaron tres redes en verano, cuatro en invierno, cinco en otoño y seis en primavera (Figura 31c, f, i, l). En la simulación con un periodo de 15 días de DLP se observó un quiebre constante al sur de Costa Rica y conexión desde Colombia hacia Panamá durante primavera (Figura 30f), del mismo modo, en la simulación a 30 días de DLP se observó la misma conexión en primavera y verano (Figura 31f, i). Para ambos periodos de deriva, las zonas B y C estuvieron conectadas durante casi todo el año por una red con extensión desde el sur de México (Oaxaca-Chiapas) hasta el Norte de Costa Rica (15 días) o hasta Panamá (30 días) con un porcentaje de trayectorias conectadas entre polígonos de 0.06 a 3.6%. Tomando en cuenta el total de trayectorias simuladas, el porcentaje de conectividad para ambos periodos de DLP en la zona C fue del 15 al 20.2%, mientras que el porcentaje de autoreclutamiento osciló del 10.4 al 14.3%.

En general, el porcentaje de trayectorias que fueron contabilizadas para las simulaciones de 15 y 30 días de DLP osciló entre 62.6 y 71.4%, mientras que las trayectorias que terminaron fuera de los polígonos de conteo oscilaron entre 28.6 y 37.3%



**Figura 30.** Redes formadas para *Lutjanus argentiventris* en invierno (a - c), primavera (d - f), verano (g - i) y otoño (j- l) durante un periodo de 15 días de deriva larval. Los puntos rojos son los centroides, las líneas de colores representan las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C son la longitud de las redes.



**Figura 31**. Redes formadas para *Lutjanus argentiventris* en invierno (a - c), primavera (d - f), verano (g - i) y otoño (j- l) durante un periodo de 30 días de deriva larval. Los puntos rojos son los centroides, las líneas de colores representan las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C son la longitud de las redes.

# 5.3.3. Segundo escenario - distribución continua (centroides polígonos)

A partir de la simulación del transporte larval asumiendo una distribución continua con 15 días de DLP, se observó que en la de región del Pacífico (zona A) el transporte ocurrió sobre los polígonos adyacentes, mientras que el Golfo de California se caracterizó por conexiones entre polígonos de la península y el continente, principalmente en la región de las Grandes Islas (de los polígonos 26 – 29 al 30 – 33 y 34, del polígono 35 al 25 y 28) y parte norte de Baja California Sur con el centro-sur de Sonora [de los polígonos 37 – 38 al 25 – 36 y del 33 – 35 al 23, 25 y 27 (Figura 32a-d)]. Sin embargo, durante verano solo se observaron conexiones en el Alto Golfo de California (polígonos 30 – 32 al 27 – 29). La simulación con trasporte larval a 30 días, permitió ver conexiones entre los polígonos del sur de Baja California Sur y Sinaloa (de los polígonos 16 al 42 – 43 y del 21 al 37 – 38) para la temporada de primavera y otoño (Figura 33a-d) en donde de una a tres trayectorias fueron intercambiadas entre polígonos.

Se observó transporte desde la zona B a la zona A [Nayarit a Sinaloa (polígonos 47 al 44 – 46)], tanto para los 15 como para los 30 días de DLP. Se observó autoreclutamiento con un máximo de 60 trayectorias que no salieron del polígono de origen, así como transporte larval entre los polígonos más cercanos. No se observó transporte de la zona B a la zona C (desde México a Centroamérica) en ninguna de las temporadas del año (Figura 32e-h; Figura 33e-h).

La zona C se caracterizó por presentar transporte larval durante primavera y otoño (en invierno solamente para el periodo de 30 días) entre Guatemala y Oaxaca (polígonos 74 al 71-73). Se mantuvo el transporte larval entre El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica para ambos periodos de deriva (Figura 32i-l; Figura 33i-l). Por otro lado, la ensenada de Panamá mostró estar bien conectada durante todo el año. En invierno y primavera fue posible observar transporte de Colombia a Panamá a los 15 días de deriva [106 a 104 (Figura 32i-l)], mientras que a los 30 días se observó transporte larval durante todo el año entre esas áreas [106 al 100 – 104 (Figura 33i-l)].



**Figura 32.** Matriz de conectividad para trayectorias a partir de los centroides a 15 días de deriva. La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a los polígonos. Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California Iado peninsular (GC-PEN), Golfo de California Iado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY – CMA), Michoacán a Guerrero (MIC – GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX – CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA – CRA) y Panamá a Colombia (PAN – COL).



**Figura 33.** Matriz de conectividad para trayectorias a partir de los centroides a 30 días de deriva. La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a los polígonos. Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California lado peninsular (GC-PEN), Golfo de California lado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY – CMA), Michoacán a Guerrero (MIC – GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX – CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA – CRA) y Panamá a Colombia (PAN – COL).

Respecto a las redes generadas en el Pacífico (zona A) para la simulación de distribución continua a 15 días de DLP, se presentaron tres redes en primavera y cuatro en invierno, verano y otoño, con un porcentaje de conexión entre polígonos de 0.01 a 0.2% del total de trayectorias simuladas. Se observó que Baja California y Baja California Sur no estuvieron conectadas. Durante primavera y verano la parte Sur de la Península (Pacífico) se conectó con el sur del Golfo de California (lado peninsular) (Figura 34a, d, g, j). Para el periodo de 30 días de DLP se formaron dos redes en invierno y primavera, tres en otoño y cuatro en verano, con un porcentaje de 0.01 a 3.6% de conexión entre polígonos. Se observó que durante primavera se formó una red que conectó a Baja California y Baja California Sur (lado del Pacífico) con Sinaloa hasta Colima. Durante invierno, primavera y verano la parte sur del Pacífico compartió una red con el Sur del Golfo de California (península) (Figura 35a, d, g, j). Considerando el total de trayectorias simuladas para este escenario, el porcentaje de conectividad que hubo en la zona A (ambos periodos de deriva) durante el año estuvo entre 7.5 a 9.7%, mientras que el autoreclutamiento osciló entre 11.3 y 13%.

A su vez, se identificaron cuatro redes en primavera, verano y otoño y cinco en invierno en el Golfo de California a los a los 15 días de DLP. A los 30 días de DLP se detectaron dos redes en invierno y tres en primavera, verano y otoño. Ambos periodos de deriva mostraron un porcentaje de conexión entre polígonos que osciló entre 0.01 a 3.6%. El norte del Golfo de California estuvo conectado por una sola subred. Se encontraron interrupciones entre las redes durante gran parte del año al centro de Sonora, norte de Sinaloa y norte y centro de Baja California Sur (Figura 34a, d, g, j; Figura 35a, d, g, j). En particular, a los 30 días de DLP se observó conexión entre Sonora y el centro de Baja California Sur durante todo el año (Figura 35a, d, g, j). Del total de trayectorias simuladas, el porcentaje de conectividad (15 y 30 días de DLP) para esta zona durante el año osciló entre 4 y 5% y el autoreclutamiento entre 10 y 12.8%.

En la zona B a los 15 días de DLP se formaron tres redes en otoño e invierno y cuatro en primavera y verano. A los 30 días de DLP se formaron dos redes en

invierno y tres en primavera, verano y otoño. Para ambos periodos de deriva se observó conexión durante todo el año entre la zona A y la zona B, desde Sinaloa hasta el centro-sur de México. Se observó una interrupción entre redes al sur de México (Guerrero-Oaxaca) con una distancia aproximada de 140 km (Figura 34b, e, h, k; Figura 35b, e, h, k). El porcentaje de trayectorias compartidas entre polígonos fue de 0.01 a 2% para 15 días y de 0.01 a 3.6% para 30 días de DLP.

En la zona C a los 15 días de DLP se detectaron tres redes en invierno, cuatro en verano y cinco en primavera y otoño. Durante otoño se observó conexión entre la zona B y la C, desde el sur de México (Oaxaca) hasta el norte de Panamá. Se identificaron dos interrupciones, una entre México (Chiapas) y Centroamérica (Guatemala) durante invierno, primavera y verano y la segunda al centro de Panamá durante todo el año (Figura 34c, f, i, I). A los 30 días de DLP se formaron 2 redes a lo largo del año, con un porcentaje de conexión entre polígonos de 0.01 a 3.6%. Durante otoño, invierno y primavera se observó que la zona B y C estuvieron conectadas desde la parte sur de México (Guerrero) hasta Panamá y norte de Colombia, también se detectó una red a lo largo del año de Colombia hacia Panamá (Figura 35c, f, i ,I). El porcentaje de conectividad para la zona C (ambos periodos de DLP y durante el año), considerando todas las trayectorias simuladas, osciló entre 11 y 12.6%, mientras que el autoreclutamiento estuvo entre 8 y 10.8

En general, el porcentaje de trayectorias que fueron contabilizadas para las simulaciones de 15 y 30 días de DLP osciló entre 55 y 61 %, mientras que las trayectorias que terminaron fuera de los polígonos de conteo oscilaron entre 39 y 44.6%.



**Figura 34**. Redes formadas con los centroides (puntos rojos) en invierno (a - c), primavera (d - f), verano (g - i) y otoño (j- l) durante un periodo de 15 días de deriva larval. Las líneas de colores representan las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C son la longitud de las redes.



 $\longrightarrow$  0.01 - 0.05  $\longrightarrow$  0.06 - 0.10  $\longrightarrow$  0.11 - 0.60  $\longrightarrow$  0.61 - 0.90  $\longrightarrow$  0.91 - 2.00  $\implies$  2.10 - 3.60 Figura 35. Redes formadas con los centroides (puntos rojos) en invierno (a - c), primavera (d - f), verano (g - i) y otoño (j- l) durante un periodo de 30 días de deriva larval. Las líneas de colores representan las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C son la longitud de las redes

# 5.3.4. Tercer escenario - temporada reproductiva

Durante la temporada reproductiva de *L. peru*, en la zona A, el transporte del lado del Pacífico ocurrió sobre los polígonos más cercanos y se observó transporte directo desde la boca del Golfo de California al Pacífico (polígono 16 al 15). También se observó conectividad ininterrumpida sobre el Pacífico para ambos periodos de deriva (Figura 36a, d). En el Golfo de California se observaron conexiones entre la costa peninsular y continental, entre el alto Golfo de California y la región de las Grandes Islas (entre los polígonos 26 - 29 al 30 - 33). Además, durante los 30 días de DLP se observó transporte desde la parte media de Baja California Sur (polígonos 17, 20 y 21) hasta el sur de Sonora y centro de Sinaloa [37, 43 y 44 (Figura 36d)].

En la zona B, para ambos periodos de deriva se observó transporte desde la zona B a la zona A [norte de Nayarit (47) al sur de Sinaloa (46)]. El transporte a lo largo de la zona B fue sobre los polígonos adyacentes, donde máximo 50 trayectorias se intercambiaron entre polígonos (Figura 36b, e)

Para ambos periodos de deriva se observó transporte de la zona C a la zona B [norte de Guatemala (74) al sur de Chiapas (72 – 73)]. Todos los polígonos de Centroamérica estuvieron conectados, excepto al centro de Panamá (polígono 97) y norte de Colombia (105). Por otra parte, se observó transporte desde Colombia hacia Panamá para ambos periodos de deriva (Figura 36c, f).



**Figura 36.** Matriz de conectividad para la temporada reproductiva de *Lutjanus peru*. Periodo de deriva de 15 días (a - c), periodo de deriva de 30 días (d - f). Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California lado peninsular (GC-PEN), Golfo de California lado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY-CMA), Michoacán a Guerrero (MIC–GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX–CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA–CRA) y Panamá a Colombia (PAN–COL). La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a un determinado polígono.

Durante la temporada reproductiva de *L. argentiventris* en el Pacífico (zona A), el transporte ocurrió sobre los polígonos adyacentes. Se observó transporte entre el Pacífico y la boca del Golfo de California (polígonos 16 al 15) para los 15 y 30 días de DLP (Figura 37a, d). Durante el periodo de 15 días de DLP, el Golfo de California se caracterizó por presentar transporte entre la península y el continente (y viceversa), principalmente en el alto Golfo de California y la zona de las Grandes Islas (polígonos 26 – 29 al 30 – 35) donde se intercambiaron entre 10 a 25 trayectorias entre polígonos (Figura 37a); mientras que el transporte a 30 días de DLP permitió observar conexiones entre la parte media de Baja California Sur y sur de Sonora [polígonos 20 y 21 al 37 (Figura 37d)].

En la zona B, para ambos periodos de deriva se observó transporte de la zona B a la zona A [de Nayarit (47) a Sinaloa (45 y 46)]. En general, el transporte ocurrió sobre los polígonos adyacentes y no se observaron interrupciones en la conectividad (Figura 37b, e).

En la zona C, para ambos periodos de deriva, se observó transporte larval desde el norte de Guatemala (polígono 74) al sur de Chiapas (71 – 73). Se observó que todos los polígonos de Centroamérica estuvieron conectados, desde Guatemala hasta el centro de Panamá, donde hasta 100 trayectorias fueron transportadas hacia otros polígonos; sin embargo, entre los polígonos de la parte norte y sur de Panamá (polígono 97) no se mostró conectividad. Por otra parte, hubo transporte desde los polígonos de Colombia hacia los de Panamá para ambos periodos de deriva [polígonos del 106 al 100 - 103 (Figura 37c f)].



**Figura 37.** Matriz de conectividad para la temporada reproductiva de *Lutjanus argentiventris.* Periodo de deriva de 15 días (a - c), periodo de deriva de 30 días (d - f). Salida de trayectorias (eje X) y llegada (eje Y). Pacífico (PAC), Golfo de California lado peninsular (GC-PEN), Golfo de California lado continental (GC-CON), Nayarit a Colima (NAY–CMA), Michoacán a Guerrero (MIC–GUE), Oaxaca a Chiapas (OAX–CHI), Guatemala a Costa Rica (GUA–CRA) y Panamá a Colombia (PAN–COL). La barra de colores representa la cantidad de trayectorias que llegaron a un determinado polígono.

Con respecto a las redes pertenecientes a la temporada reproductiva de L. peru, a los 15 días de DLP en el Pacífico (zona A), se formaron dos redes, una se compartió con la boca del Golfo de California (lado peninsular) y la otra no. A los 30 días de DLP se formó una red que se compartió con el lado continental. El porcentaje de trayectorias intercambiadas entre polígonos para ambos periodos fue de 0.006 a 0.5% del total de trayectorias simuladas (Figura 38a, d). Con lo que respecta al Golfo de California, para el periodo de 15 días de DLP se observaron cuatro redes, una de ellas conectando el Alto Golfo de California con la región de las Grandes Islas; se observaron interrupciones en la dispersión larval en el centro y sur de Baja California Sur, centro de Sonora y norte de Sinaloa (Figura 38a). Para el periodo de 30 días se observaron dos redes, una conectando el Alto Golfo con Grandes Islas y la otra conectando la costa continental a partir del sur de Sonora hasta Sinaloa con Baja California Sur. Se encontraron interrupciones a la dispersión larval al centro y norte de Baja California Sur y centro de Sonora (Figura 38d). El porcentaje de trayectorias que conectaron polígonos fue de 0.006 a 0.8% (Figura 38a, d).

La zona B, a los 15 días de deriva se vio caracterizada por la formación de dos redes, una se compartió con la zona A, la cual se extendió desde Sinaloa hasta el sur de México (norte de Guerrero), mientras que la segunda red se compartió con la zona C, desde el sur de México (sur de Guerrero) hasta Colombia. Cabe mencionar que entre ambas redes se encontró una interrupción para la conectividad. El porcentaje de trayectorias que conectaron los polígonos de la zona B y C fue de 0.006 a 1.5 % (Figura 38b, c). Para el periodo de 30 días de DLP se formó una red compartida con la zona A, B y C, desde el sur de Sonora hasta Colombia, con un porcentaje de trayectorias compartidas entre polígonos de las tres zonas de 0.006 a 0.8% (Figura 38d-f).

Considerando el total de trayectorias simuladas para este escenario, el porcentaje de trayectorias contabilizadas osciló entre 54 y 53%, mientras las trayectorias terminaron fuera de los polígonos, es decir, en mar abierto, oscilaron entre 46 y 47%.

77



**Figura 38.** Redes de conectividad formadas durante la temporada reproductiva de Lutjanus peru para el periodo de 15 días de deriva (a-c) y para el periodo de 30 días de deriva (d- f). Zona A (a, d), zona B (b, e) y zona C (c, f). Los puntos rojos representan el centroide de cada polígono, las líneas de colores son las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C representan la longitud de las redes.

Para la temporada reproductiva de *L. argentiventris* a 15 días de DLP, en la zona A (Pacífico), se formaron 4 redes, mientras que a los 30 días de DLP se encontraron 3 redes. En ambos periodos una red se compartió con la boca del Golfo de California (lado peninsular) y se identificaron dos interrupciones constantes en la dispersión larval en ambos periodos de deriva, una al centro de Baja California y otra entre Baja California y Baja California Sur. El porcentaje de conexión entre polígonos fue de 0.006 a 0.8% (Figura 39a, d). En el Golfo de California se identificaron cinco redes para el periodo de 15 días de DLP y dos para el periodo de 30 días de DLP, en ambos casos el Alto Golfo de California y la región de las Grandes Islas estuvieron conectadas por una sola red. Además, a los 30 días de DLP se observó conexión entre la parte peninsular (norte de Baja California Sur) y la parte continental. Por otro lado, para ambos periodos se observaron interrupciones constantes en la dispersión larval en el norte y centro del Baja California Sur y al centro de Sonora (Figura 39a, d).

Cabe resaltar que las zonas A, B y C, para ambos periodos de deriva, se caracterizaron por compartir una sola red con una extensión desde Sinaloa hasta Colombia para las simulaciones de 15 días de DLP, y desde el sur de Sonora hasta Colombia para 30 días de DLP. Se observó un porcentaje de conexión entre polígonos de 0.006 a 1.5% del total de trayectorias simuladas (Figura 39a-c, d-f).

Considerando el total de trayectorias simuladas para este escenario, el porcentaje de trayectorias contabilizadas osciló entre 60 y 62%, mientras las trayectorias terminaron fuera de los polígonos, es decir, en mar abierto, oscilaron entre 38 y 40%.



**Figura 39.** Redes formadas durante la temporada reproductiva de *Lutjanus argentiventris* para el periodo de 15 días de deriva (a-c) y para el periodo de 30 días de deriva (d- f). Zona A (a, d), zona B (b, e) y zona C (c, f). Los puntos rojos representan el centroide de cada polígono, las líneas de colores son las redes formadas y el grosor representa el porcentaje de conexión entre polígonos. Las líneas de colores gruesas en mar abierto en la zona B y C representan la longitud de las redes.

# 5.4. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP´s)

### 5.4.1. Control de calidad de la librería

La e representa la tasa de error de secuenciado y el  $Q_{phred}$  representa el valor de calidad base,  $Q_{phred} = -10\log_{10}(e)$ . La relación entre el error de secuenciado (e) y el valor base de calidad ( $Q_{phred}$ ) se muestra a continuación (Tabla 9):

Phred score	Error por bases	Bases correctas	Q-score
10	1/10	90%	Q10
20	1/100	99%	Q20
30	1/1000	99.9%	Q30
40	1/10000	99.99%	Q40

Tabla 9. Puntaje de calidad y precisión del llamado de las bases.

La distribución del puntaje de calidad a lo largo de las lecturas de los cuatro pools mandados a secuenciar de *L. peru* fluctuaron entre 30 y 40 (Figura 40).



**Figura 40**. Puntaje de calidad de la secuenciación del pool 1, correspondiente a Isla Espíritu Santo y parte de Conquista Agraria (a), pool 2 correspondiente al resto de Conquista Agraria, Nayarit y parte de Oaxaca (b), pool 3 correspondiente al resto de Oaxaca y parte de Colima(c) y pool 4 correspondiente al resto de Colima y Panamá (d).

La salida total de datos crudos en el secuenciador fue de 142.5 Gigabytes. La estadística detallada de la calidad de los datos de secuenciación se muestra a continuación (Tabla 10).

Muestra	Lecturas crudas	Datos crudos	Efectividad (%)	Error (%)	Q20(%)	Q30(%)	GC(%)
P1	250´565,220	37.6	99.99	0.01	96.80	92.59	42.96
P2	173´784,544	26.1	99.99	0.01	96.88	92.74	42.56
P3	201´615,014	30.2	99.99	0.01	96.75	92.50	43.10
P4	170´811,278	25.6	99.99	0.01	96.45	92.07	43.19

 Tabla 10. Resumen de la calidad de los datos.

El objetivo de la librería de SNP´s se quedó a este nivel de desarrollo debido al retraso que causó el virus SARS-CoV-2 en el trabajo de laboratorio.

# 6. Discusión

Los análisis del presente trabajo de investigación identificaron la presencia de estructura genética en *L. peru* y *L. argentiventris* a lo largo del POT y GC. A pesar de que las dos especies pertenecen al mismo género, presentan una distribución geográfica similar, las poblaciones adultas de ambas especies coocurren en arrecifes rocosos y que presentan cambios de hábitat ontogénicos durante su ciclo de vida, la ubicación de las barreras putativas para el flujo genético fue distinta entre ambas especies.

Los impulsores de la estructura genética fueron relevantes a diferentes escalas geográficas. El aislamiento por distancia fue evidente a escalas grandes (>2500 km), mientras que a escalas locales (<250 km) la discontinuidad de hábitats usados por juveniles y adultos de ambas especies, los gradientes ambientales a lo largo del rango de distribución y las condiciones oceanográficas (corrientes) influyeron directamente en la dispersión larval. Estos, fueron los impulsores más importantes de la estructura genética en el GC y en el POT. Cabe resalar que los diversos impulsores estuvieron actuando al mismo tiempo a diferentes escalas

geográficas y temporales (como se describe a continuación), haciendo difícil la explicación de los patrones genéticos encontrados si estos fueran ignorados.

# 6.1. Simulación de transporte larval

En general, los tres escenarios de simulación para ambas especies representaron adecuadamente las barreras para el flujo genético. Sin embargo, la homogeneidad genética encontrada no fue representada de manera certera por el modelo de transporte larval en la mayoría de los escenarios y periodos de deriva larval simulados, sobre todo en la parte del GC. Región que se caracteriza por poseer una fuerte circulación estacional reversible (Marinone 2012; Santiago-García et al. 2014) y actividad mesoescalar (Zamudio et al. 2008; Lavín et al. 2013; Zavala-Sansón 2015) que previamente han sido asociadas a dispersión larval de peces arrecifales a lo largo de la costa peninsular y continental así como dispersión entre ambas costas (Munguia-Vega et al. 2014, 2018a; Reguera-Rouzaud et al. 2020).

El escenario de simulación de las coordenadas de ocurrencias tuvo la ventaja de que consideró como puntos de desove los registros reales de los organismos (coordenadas), sin embargo, es posible que los registros de ocurrencias subestimaran la distribución de la especie ya que pueden existir más poblaciones a lo largo del POT que aún no han sido documentadas, sobre todo en Centroamérica y Colombia, siendo la falta de información la principal limitante para este escenario. Además, la resolución de estos puntos fue mayor en la zona costera de lo que pudo manejar el modelo de circulación HYCOM. A pesar de que el modelo tiene una buena resolución en la zona costera (Wallcraft et al. 2009) no fue suficiente como para tomar en cuenta las coordenadas de ocurrencia que estuvieron más cercanas a la costa, sobre todo en el Alto Golfo de California en donde hubieron aproximadamente 70 km de distancia desde la costa hasta el primer dato de corrientes. En general hubo falta de información de corrientes en los primeros 20 km desde la costa hacia mar abierto.

Por otro lado, el escenario de distribución continua (desde el centroide de cada polígono), tuvo como ventaja que consideró como posible sitio de desove toda la distribución potencial de los organismos a lo largo del POT, además de que el
punto de inicio del desove se ubicó en el centro de la plataforma continental, donde en todos los casos hubo información de corrientes del HYCOM, resolviendo así el problema de la falta de información y resolución del primer escenario de simulación.

Finalmente, el escenario que consideró la temporada reproductiva de *L. peru* y *L. argentiventris* tuvo poca certidumbre en los resultados, ya que se extrapoló la poca información disponible a regiones amplias a lo largo del POT, dando como resultado redes de conectividad muy amplias y que no concordaban con la estructura genética de ambas especies.

A pesar de que el escenario de las coordenadas de ocurrencias y el de temporada reproductiva contaron con datos biológicos, la falta de información fue la principal desventaja para ambos escenarios. Por el contrario, el modelo de distribución continua explicó mejor las barreras para el flujo genético y la conectividad entre localidades. Por esta razón se asume que este escenario presentó los mejores resultados (Tabla 11). Sin embargo, las barreras para el flujo genético en este escenario se vieron mejor representadas por una DLP de 15 días para el Pacífico Tropical Mexicano y Centroamérica, mientras que la homogeneidad por una DLP de 30 días principalmente para el GC. Esto podría indicar una selección fuerte de larvas de acuerdo al tiempo de desarrollo larval y la zona en la que fueron simuladas.

El desarrollo larval está influenciado principalmente por dos factores: la temperatura y la disponibilidad de alimento. A mayor temperatura hay un desarrollo acelerado de las larvas de peces, por lo tanto alcanzan su madurez a temprana edad y talla (Hunter & Kimbrell 1979). Los jets de Tehuantepec, Papagayo y Panamá, así como el domo de Costa Rica han sido asociados a zonas productivas (Lavín et al. 2006), sin embargo que sean zonas productivas no asegura que haya alimento adecuado (Anaya-Godínez et al. 2017) para las larvas de *L. peru y L. argentiventris.* En este sentido, el factor que posiblemente fue determinante para el desarrollo larval corto (15 días de DLP) en el Pacífico Tropical Mexicano y Centroamérica fue la temperatura. En estas zonas la temperatura tuvo un rango entre 27 a 29°C, mientras que en el GC se presentaron temperaturas de 21 a 27°C.

En este sentido, las larvas en el GC posiblemente presentan un desarrollo más lento a comparación de las larvas del Pacífico Mexicano y Centroamérica. Un estudio de laboratorio en Macarela indicó que a temperaturas de aproximadamente 26°C las larvas alcanzaban tallas de 15 mm en 10 días, mientras que a temperaturas de 20°C alcanzaban la misma talla en 20 días (Go et al. 2020).

A partir de este momento la discusión se llevará a cabo con el escenario de distribución continua.

**Tabla 11.** Comparación de los tres escenarios de simulación con los resultados genéticos. La marca de verificación ( $\checkmark$ ) indica que las interrupciones para el flujo genético encontradas y el flujo genético (columna dos) entre localidades propuesto por los resultados genéticos (AMOVA,  $F_{ST}$ , DAPC y flujo genético) concuerda con la simulación de transporte larval. Duración larval planctónica (DLP), Golfo de California (GC), San Bruno (SBO), Isla Espíritu Santo (IES), Altata (ALT), Nayarit (NAY), Colima (CMA), Oaxaca (OAX) y Panamá (PAN). Invierno (I), primavera (P), verano (V) y otoño (O).

Especie		Escenario	Escenario Ocurrencias							Distribución continua							Temporada reproductiva			
		DLP		1	15			3	30			1	5			3	30		15	30
			I	Ρ	V	0	I	Ρ	V	0	I	Ρ	V	0	I	Ρ	V	Ο		
		GC / NAY	$\checkmark$		$\checkmark$	$\checkmark$	✓			$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$		$\checkmark$		$\checkmark$	$\checkmark$	
L. peru	Barreras	NAY / OAX	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	✓	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	✓	$\checkmark$	$\checkmark$		$\checkmark$	
		OAX / PAN	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	✓	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$						
	<b>-1</b> ·	CA + GC														✓	✓			✓
	Flujo genético	PAN + COL									$\checkmark$	$\checkmark$			✓	✓	✓	$\checkmark$	$\checkmark$	✓
		IES / SBO	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	✓	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	✓	$\checkmark$	$\checkmark$	$\checkmark$	✓	$\checkmark$	✓	<	$\checkmark$	$\checkmark$
L. argentiventris	Barreras	CMA / PAN	$\checkmark$	$\checkmark$	✓	✓	✓	✓	✓	✓	~	✓	✓	✓	~	✓	✓	✓		
	Flujo genético	IES + ALT CMA + ALT + SBO													✓					

## 6.2. Escala espacial

## 6.2.1. Estructura genética a gran escala

En una escala grande (>2500 km), el aislamiento por distancia impidió el flujo genético para *L. peru* y *L. argentiventris*, donde solo las poblaciones cercanas intercambiaron migrantes. En contraste, en el trabajo de Hernández-Álvarez et al. (2020) no se encontraron diferencias genéticas entre las poblaciones de *L. peru* a lo largo de las costas del POT. La discrepancia podría ser explicada debido a que utilizaron ADNmt, mientras que en este trabajo se utilizaron marcadores microsatelitales, los cuales poseen tasas de mutación más altas que el ADNmt y además tienen el potencial de proveer estimaciones contemporáneas de migración y el poder de distinguir valores relativamente altos de flujo genético de la panmixia (Selkoe & Toonen 2006).

Aunque la interrupción al flujo genético encontrado para ambas especies entre el centro-sur de México (Colima o Oaxaca) y Centroamérica (Panamá) podría ser un artefacto del diseño de muestreo, esta misma interrupción ha sido observada previamente en otras especies de peces como *Elacatinus puncticulatus* [(Gobiidae), Sandoval-Huerta et al. 2019], *Merluccius productus* [(Merlucciidae), García-De León et al. 2018] y *Mugil curema* [(Mugilidae), Pacheco-Almanzar et al. 2020] y ha sido atribuida al aislamiento por distancia, falta de hábitat adecuado para el reclutamiento y diferencias ambientales, principalmente temperatura y salinidad (García-De León et al. 2018; Rodríguez-Zárate et al. 2018; Sandoval-Huerta et al. 2019; Pliego-Cardenas et al. 2020). En el caso de *L. peru* y *L. argentiventris*, la interrupción al flujo genético fue explicada por la discontinuidad de hábitat para juveniles (fondo blando para *L. peru*) y adultos (arrecife rocoso para ambas especies), lo cual corresponde con la brecha de Centroamérica (Hastings 2000; Craig et al. 2006)..

Además, se encontró evidencia de una baja probabilidad de ocurrencia (basada en las variables ambientales evaluadas) alrededor de la brecha de Centroamérica para *L. argentiventris* y una fuerte diferenciación ambiental correspondiente a la temperatura, salinidad, pH y clorofila-a entre el Pacífico tropical mexicano y la bahía de Panamá. A su vez, se sabe que el POT se caracteriza por presentar un fuerte sistema de surgencias en el Istmo de Tehuantepec (Kessler 2006), que puede ser estresante para las larvas y peces adultos (Sandoval-Huerta et al. 2019).

Las barreras para el flujo genético impuestas por una alta selección y una adaptación local entre poblaciones puede ser detectable en marcadores neutrales (Kirk & Freeland 2011; Sexton et al. 2013); algunos ejemplos incluyen fuertes gradientes ambientales relacionados con la estructura genética de *Merluccius productus* estimado con marcadores microsatelitales (García-De León et al. 2018) y diferencias ambientales con una alta presión de selección pre o post asentamiento reflejada en la estructura de *Thaleichthys pacificus* y en las langostas *Homarus americanus* y *Sagmariasus verreauxi* utilizando SNP's neutrales (Candy et al. 2015; Benestan et al. 2016; Woodings et al. 2018).

Aunado a los factores que interrumpieron el flujo genético entre el centro-sur de México y Centroamérica, también se observó que en las simulaciones (15 y 30 días de DLP) hubo falta de transporte larval entre estas zonas durante todo el año. Cabe mencionar que hasta el momento no hay estudios sobre transporte larval en peces para el POT, pero si los hay para corales. Los autores Wood et al. 2014, 2016 y Romero-Torres et al. 2017, 2018 utilizaron el modelo HYCOM para simular el transporte larval de corales en las primeras capas superficiales (0 a 30 m). En contraste a lo que nosotros obtuvimos, los autores observaron que el Pacífico Tropical Mexicano, Centroamérica y Colombia estaban conectados por medio de del transporte larval, sin embargo, utilizaron una DLP de 30 a 150 días.

## 6.2.2. Estructura genética a escala local

La barrera para el flujo genético más importante a esta escala en *L. peru* se encontró entre el Golfo de California y Nayarit, donde coincidió con la discontinuidad de arrecife rocoso, el cual ha sido previamente identificado como la brecha de Sinaloa (Hastings 2000; Craig et al. 2006); la especie *Tripterygion delaisi* (Tripterygiidae) mostró una interrupción al flujo genético relacionado con esta clase de discontinuidad de hábitat (Schunter et al. 2019). Otro factor potencial para esta barrera genética fueron las diferencias ambientales entre la ecoregion de Cortez y

la del Pacífico tropical mexicano, aunado a los remolinos de mesoescala y la zona de surgencias en la boca del Golfo de California, donde la corriente de California, la corriente Costera Mexicana y la corriente del Golfo de California convergen (Zamudio et al. 2008; Sandoval-Huerta et al. 2019), a su vez el modelo de transporte larval mostró falta de conectividad entre Nayarit y la parte norte de Sinaloa (Topolobampo) a lo largo de todo el año.

La barrera encontrada en *L. peru* entre Nayarit y Oaxaca también fue explicada por la discontinuidad de hábitat de arrecife rocoso (>150 km) y la falta de dispersión larval entre ambas localidades a lo largo de todo el año. Cabe resaltar que *L. peru* no presenta extensas migraciones (Rocha-Olivares & Sandoval-Castillo 2003) y se ha estimado que el rango de movimiento de los peces adultos está entre 5 a 10 km (Green et al. 2015; Munguia-Vega et al. 2018b).

Por otro lado, se encontró estructura genética dentro del Golfo de California para *L. argentiventris*, entre la localidad de San Bruno e Isla Espíritu Santo, en contraste con *L. peru* donde se observó homogeneidad genética. La estructura mostrada en *L. argentiventris* puede ser explicada debido a los pequeños y pocos parches de manglares (<1 km) en la parte peninsular del Golfo de California para el reclutamiento de juveniles (Munguia-Vega et al. 2018a). Aunado a esto, no se encontró transporte larval entre San Bruno e Isla Espíritu Santo, en concordancia con el trabajo de Santiago-García et al. (2014) donde simularon periodos de circulación anticiclónica (enero), ciclónica (julio) y de transición (mayo) con el modelo HAMSOM. Sin embargo, Marinone (2012) utilizando el mismo modelo de circulación sí encontró transporte larval entre Isla Espíritu Santo y San Bruno para los periodos de febrero, septiembre y noviembre. Por lo tanto, la explicación más probable para la estructura genética encontrada en *L. argentiventris* es la discontinuidad de hábitats.

Además de la discontinuidad en los hábitats, otros estudios han encontrado que a escalas <1000 km la dispersión larval y el reclutamiento son los principales procesos que afectan a la estructura genética (Pascual et al. 2017; Dalongeville et al. 2018; Schunter et al. 2019; Berkström et al. 2020). Por el contrario, la falta general de estructura genética encontrada en el Golfo de California está relacionada a las corrientes superficiales estacionales reversibles y a los remolinos de mesoescala (Lavín & Marinone 2003) que trasportan larvas de peces, creando diferentes patrones de estructura metapoblacional que tienden a homogenizar las frecuencias alélicas (Soria et al. 2012; Beldade et al. 2014; Munguia-Vega et al. 2014, 2018a; Lodeiros et al. 2016; Cisneros-Mata et al. 2018; Reguera-Rouzaud et al. 2020). Sin embargo, el comportamiento natatorio, el éxito de asentamiento y la topografía (ej. plataforma continental estrecha o pendientes muy pronunciadas), pueden contribuir a que haya diferenciación genética (Sefc et al. 2020).

Por otro lado, la homogeneidad genética encontrada en *L. peru* entre Panamá y Colombia puede ser explicada por la presencia de un remolino ciclónico con una velocidad aproximada de 30 cm/s, lo que implica que las larvas de *L. peru* podrían ser transportadas desde la parte norte de Colombia hasta Panamá en aproximadamente 10 días (Chaigneau et al. 2006; Peña et al. 2017), corroborando lo que se observó en el modelo de transporte larval, donde a 15 días de deriva durante invierno y primavera se observó conexión entre Colombia y Panamá, mientras que a 30 días de deriva se observó conectividad a lo largo de todo el año.

Con respecto a *L. argentiventris*, la brecha de Sinaloa no afectó a la estructura genética, a diferencia de *L. peru*. La falta de estructura genética podría explicarse por la presumible conectividad de los juveniles debido a la continuidad de manglar a lo largo de toda la costa continental, aunado a la presencia de una red de dispersión larval formada en invierno a una DLP de 30 días que conectó Colima, Sinaloa y Sonora con la parte norte de Baja California Sur, explicando el patrón de *F*<sub>ST</sub> encontrado.

# 7. Conclusiones

Todos los impulsores de la estructura genética estuvieron trabajando en conjunto en diferentes escalas espaciales y temporales, dando como resultado los patrones genéticos encontrados. A escalas grandes el principal causante de la estructura fue el aislamiento por distancia, mientras que, a escalas locales, las discontinuidades en el hábitat, las diferencias ambientales entre ecoregiones y los patrones de transporte larval provocaron barreras para el flujo genético de ambas especies, principalmente en la boca del Golfo de California, centro-sur (Colima o Oaxaca) de México y Panamá.

La homogeneidad genética encontrada en el Golfo de California y entre Panamá y Colombia fue principalmente debido a los remolinos de mesoescala, que transportaron larvas entre las localidades.

El modelo HYCOM representó la circulación y las estructuras hidrográficas para el Golfo de California y Pacífico Oriental Tropical que previamente habían sido reportadas para la capa superficial del océano.

El escenario de simulación que mejor representó la conectividad y barreras para el flujo genético fue el escenario de distribución continua, mientras que el escenario de coordenadas de ocurrencias y el de temporada reproductiva tuvieron poca certidumbre debido a la falta de información.

En el escenario de distribución continua, la conectividad se vio mejor representada con una duración larval planctónica de 30 días, principalmente en el Golfo de California (GC), mientras que la estructura genética para el resto del Pacífico Oriental Tropical (POT) se vio mejor representada por una duración larval planctónica de 15 días. Esto debido a la variación de la temperatura en el área de estudio, a que a temperaturas cálidas las larvas se desarrollan más rápido (POT) que a temperaturas frías (GC).

# 8. Literatura citada

- Abdo de la Parra MI, Rodríguez-Ibarra LE, Rodríguez Montes de Oca G, Velasco Blanco G, Ibarra Castro L (2015) Estado actual del cultivo de larvas del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*). Lat Am J Aquat Res 43:415–423. doi: 10.3856/vol43-issue3-fulltext-3
- Aburto-Oropeza O, Dominguez-Guerrero I, Cota-Nieto J, Plomozo-Lugo T (2009) Recruitment and ontogenetic habitat shifts of the yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) in the Gulf of California. Mar Biol 156:2461–2472.
- Almany GR, Planes S, Thorrold SR, Berumen ML, Bode M, Saenz-Agudelo P, Bonin MC, Frisch AJ, Harrison HB, Messmer V, Nanninga GB, Priest MA, Srinivasan M, Sinclairtaylor T, Williamson DH, Jones GP (2017) Larval fish dispersal in a coral-reef seascape. Nat Ecol Evol 1:0148. doi: 10.1038/s41559-017-0148
- Amos W, Hoffman JI, Frodsham A, Zhang L, Best S, Hill AVS (2007) Automated binning of microsatellite alleles: Problems and solutions. Mol Ecol Notes 7:10–14.
- Anaya-Godínez E, Funes-Rodríguez R, Hinojosa-Medina AT, González-Acosta AF, Ortíz-Galindo JL, González-Rodríguez E, Landaeta MF (2017) Identificación de zonas propicias para el desarrollo larval de la macarela del Pacífico (*Scomber japonicus*) en la porción sur de la Corriente de California. Rev Biol Mar Oceanogr 52:143–157. doi: 10.4067/S0718-19572017000100012
- Assis J, Tyberghein L, Bosch S, Verbruggen H, Serrão EA, De Clerck O (2018) Bio-ORACLE v2.0: Extending marine data layers for bioclimatic modelling. Glob Ecol Biogeogr 27:277–284. doi: 10.1111/geb.12693
- Barbosa-Ortega WA, Rivera-Camacho AR, Avila-Poveda OH, Ceballos-Vázquez BP, Arellano-Martínez M (2013) Biología reproductiva de *Lutjanus peru* y *Lutajus argentiventris* (Perciformes: Lutjanidae) en la costa sur-occidental del Golfo de California. La Paz, B.C.S.
- Beldade R, Jackson AM, Cudney-Bueno R, Raimondi PT, Bernardi G (2014) Genetic structure among spawning aggregations of the gulf coney *Hyporthodus acanthistius*. Mar Ecol Prog Ser 499:193–201.
- Benestan L, Quinn BK, Maaroufi H, Laporte M, Clark FK, Greenwood SJ, Rochette R, Bernatchez L (2016) Seascape genomics provides evidence for thermal adaptation and current-mediated population structure in American lobster (*Homarus americanus*). Mol Ecol 25:5073–5092.
- Berkström C, Gullström M, Lindborg R, Mwandya AW, Yahya SAS, Kautsky N, Nyström M (2012) Exploring "knowns" and "unknowns" in tropical seascape connectivity with insights from East African coral reefs. Estuar Coast Shelf Sci 107:1–21.
- Berkström C, Eggertsen L, Goodell W, Cordeiro CAMM, Lucena MB, Gustafsson R, Bandeira S, Jiddawi N, Ferreira CEL (2020) Thresholds in seascape connectivity: the spatial arrangement of nursery habitats structure fish communities on nearby reefs. Ecography (Cop) 43:1–15.
- Blanco-Gonzalez E, Knutsen H, Jorde PE (2016) Habitat discontinuities separate genetically divergent populations of a rocky shore marine fishes. PLoS One 11:e0163052.

Candy JR, Campbell NR, Grinnell MH, Beacham TD, Larson WA, Narum SR (2015)

Population differentiation determined from putative neutral and divergent adaptive genetic markers in Eulachon (T*haleichthys pacificus*, Osmeridae), adn andadromous Pacific smelt. Mol Ecol Resour 15:1421–1434. doi: 10.1111/1755-0998.12400

- Chaigneau A, Abarca del Rio R, Colas F (2006) Lagrangian study of the Panama Bight and surrounding regions. J Geophys Res 111:1–20.
- Cisneros-Mata MA, Munguía-Vega A, Rodríguez-Félix D, Aragón-Noriega EA, Grijalva-Chon JM, Arreola-lizárraga JA, Hurtado LA (2018) Genetic diversity and metapopulation structure of the brown swimming crab (*Callinectes bellicosus*) along the coast of Sonora, Mexico: Implications for fisheries management. Fish Res 212:97– 106.
- Claro R, Lindeman KC (2008) Biología y manejo de los pargos (Lutjanidae) en el Atlántico occidental, Instituto. La Habana, Cuba
- Cowen RK, Sponaugle S (2009) Larval dispersal and marine population connectivity. Ann Rev Mar Sci 1:443–466. doi: 10.1146/annurev.marine.010908.163757
- Craig MT, Hastings PA, Pondella DJ, Robertson RD, Rosales-Casián JA (2006) Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): Implications for the biogeography of the Tropical Eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. J Biogeogr 33:969–979.
- Crowder LB, Lyman SJ, Figueira WF, Priddy J (2000) Source-sink population dynamics and the problems of siting marine reserves. Bull Mar Sci 66:799–820.
- Dalongeville A, Andrello M, Mouillot D, Lobreaux S, Fortin MJ, Lasram F, Belmaker J, Rocklin D, Manel S (2018) Geographic isolation and larval dispersal shape seascape genetic patterns differently according to spatial scale. Evol Appl 11:1437–1447.
- Durán-Oliva IL (2004) Diagnóstico pesquero y socio-económico de la pesca artesanal en la comunidad de Búcaro, Rep. de Panamá; con recomendaciones para el manejo de la familia Lutjanidae. Universidad de Costa Rica
- Erisman B, Mascarenas I, Paredes G, Sadovy de Mitcheson Y, Aburto-Oropeza O, Hastings P (2010) Seasonal, annual, and long-term trends in commercial fisheries for aggregating reef fishes in the Gulf of California, Mexico. Fish Res 106:279–288.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Mol Ecol Resour 10:564–567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Fiedler PC, Lavín MF (2016) Oceanographic conditions of the Eastern Tropical Pacific. In: Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. pp 59–83
- Fiedler PC, Talley LD (2006) Hydrography of the eastern tropical Pacific: A review. Prog Oceanogr 69:143–180. doi: 10.1016/j.pocean.2006.03.008
- Fischer W, Krupp F, Schneider W, Sommer C, Carpenter KE, Niem VH (1995) Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen III. Vertebrados Parte 2. Roma
- Fisher R, Bellwood DR, Job SD (2000) Devlopment of swimming abilities in reef fish larvae. Mar Ecol Prog Ser 202:163–173. doi: 10.3354/meps202163

- Frisk MG, Jordaan A, Miller TJ (2012) Moving beyond the current paradigm in marine population connectivity: Are adults the missing link? Fish Fish 15:242–254.
- Gallardo-Cabello M, Sarabia-Méndez M, Espino-Barr E, Anislado-Tolentino V (2010) Biological aspects of *Lutjanus peru* in Bufadero Bay, Michoacán, México: growth, reproduction and condition factors. Rev Biol Mar Oceanogr 45:205–215.
- García-De León FJ, Galván-Tirado C, Velasco LS, Silva-Segundo CA, Hernández-Guzmán R, Barriga-Sosa IDLA, Jaimes PD, Canino M, Cruz-Hernández P (2018) Role of oceanography in shaping the genetic structure in the North Pacific hake Merluccius productus. PLoS One 13:e0194646.
- García-Roselló E, Guisande C, González-Dacosta J, Heine J, Pelayo-Villamil P, Manjarrás-Hernández A, Vaamonde A, Granado-Lorencio C (2013) ModestR: A software tool for managing and analyzing species distribution map databases. Ecography (Cop) 36:1202–1207.
- García-Roselló E, Guisande C, Heine J, Pelayo-Villamil P, Manjarrés-Hernández A, González Vilas L, González-Dacosta J, Vaamonde A, Granado-Lorencio C (2014) Using MODESTR to download, import and clean species distribution records. Methods Ecol Evol 5:708–713.
- Go S, Lee K, Jung S (2020) A Temperature-Dependent Growth Equation for Larval Chub Mackerel (Scomber japonicus). Ocean Sci J 55:157–164. doi: 10.1007/s12601-020-0004-z
- Gold JR, Willis SC, Renshaw MA, Buentello A, Walker HJ, Puritz JB, Hollenbeck CM, Voelker G (2015) Phylogenetic relationships of tropical eastern Pacific snappers (Lutjanidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. Syst Biodivers 13:916–927.
- Gómez-Valdivia F, Parés-Sierra A, Flores-Morales AL (2015) The Mexican Coastal Current: A subsurface seasonal bridge that connects the tropical and subtropical Northeastern Pacific. Cont Shelf Res 110:100–107.
- Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. J Hered 86:485–486.
- Green AL, Maypa AP, Almany GR, Rhodes KL, Weeks R, Abesamis RA, Gleason MG, Mumby PJ, White AT (2015) Larval dispersal and movement patterns of coral reef fishes, and implications for marine reserve network design. Biol Rev 90:1215–1247.
- Halpern BS, Frazier M, Afflerbach J, Lowndes JS, Micheli F, O'Hara C, Scarborough C, Selkoe KA (2019) Recent pace of change in human impact on the world's ocean. Sci Rep 9:11609.
- Hastings PA (2000) Biogeography of the tropical Eastern Pacific: Distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. Zool J Linn Soc 128:319–335. doi: 10.1111/j.1096-3642.2000.tb00166.x
- Hernández-Álvarez C, Bayona-Vásquez NJ, Domínguez-Domínguez O, Uribe-Alcocer M, Díaz-Jaimes P (2020) Phylogeography of the Pacific Red Snapper (*Lutjanus peru*) and Spotted Rose Snapper (*Lutjanus guttatus*) in the Inshore Tropical Eastern Pacific. Copeia 108:61.

Heyman WD, Kjerfve B, Graham RT, Rhodes KL, Garbutt L (2005) Spawning aggregations

of Lutjanus cyanopterus (Cuvier) on the Belize Barrier Reef over a 6 year period. J Fish Biol 67:83–101.

Hilbe JM (2007) STATISTICA 7: An overview. Am Stat 61:91–94.

- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. Mol Ecol Resour 9:1322–1332.
- Hunter JR, Kimbrell CM (1979) Early life history of pacific mackerel, *Scomber japonicus*. Fish Bull 78:89–101.
- Jackson AM, Munguía-Vega A, Beldade R, Erisman BE, Bernardi G (2015) Incorporating historical and ecological genetic data for leopard grouper (*Mycteroperca rosacea*) into marine reserve design in the Gulf of California. Conserv Genet 16:811–822. doi: 10.1007/s10592-015-0702-8
- Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genet 11:15.
- Kennington WJ, Keron PW, Harvey ES, Wakefield CB, Williams AJ, Halafihi T, Newman SJ (2017) High intra-ocean, but limited inter-ocean genetic connectivity in populations of the deep-water oblique-banded snapper *Pristipomoides zonatus* (Pisces: Lutjanidae). Fish Res 193:242–249.
- Kessler WS (2006) The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. Prog Oceanogr 69:181–217.
- Kirk H, Freeland JR (2011) Applications and implications of neutral versus non-neutral markers in molecular ecology. Int J Mol Sci 12:3966–3988.
- Kopelman NM, Mayzel J, Jakobsson M, Rosenberg NA, Mayrose I (2015) CLUMPAK: a program for indentifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. Mol Ecol Resour 15:1179–1191.
- Kough AS, Claro R, Lindeman KC, Paris CB (2016) Decadal analysis of larval connectivity from Cuban snapper (Lutjanidae) spawning aggregations based on biophysical modeling. Mar Ecol Prog Ser 550:175–190. doi: 10.3354/meps11714
- Lavín MF, Marinone SG (2003) An Overview of the Physical Oceanography of the Gulf of California. In: Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics. pp 173–204
- Lavín MF, Fiedler PC, Amador JA, Ballance LT, Farber-Lorda J, Mestas-Nuñez AM (2006) A review of eastern tropical Pacific oceanography: Summary. Prog Oceanogr 69:391– 398.
- Lavín MF, Castro R, Beier E, Godínez VM (2013) Mesoscale eddies in the southern Gulf of California during summer: Characteristics and interaction with the wind stress. J Geophys Res Ocean 118:1367–1381.
- Lavín MF, Castro R, Beirer E, Cabrera C, Godinez VM, Amador-Buenrostro A (2014) Surface circulation in the Gulf of California in summer from surface drifters and satellite images (2004-2006). J Geophys Res Ocean 119:4278–4290.
- Leis JM, Hay AC, Lockett MM, Chen J, Fang L (2007) Ontogeny of swimming speed in larvae of pelagic-spawning , tropical , marine fishes. Mar Ecol Prog Ser 349:255–267. doi: 10.3354/meps07107

- Lodeiros C, Soria G, Valentich-Scott P, Munguía-Vega A, Cabrera JS, Cudney-Bueno R, Loor A, Márquez A, Sonnenholzner S (2016) Spondylids of Eastern Pacific Ocean. J Shellfish Res 35:279–293.
- Lopera-Barrero NM, Povh JA, Ribeiro RP, Gomes PC, Jacometo CB, da Silva Lopes T (2008) Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. Cienc e Investig Agrar 35:77– 86.
- Marinone SG (2012) Seasonal surface connectivity in the Gulf of California. Estuar Coast Shelf Sci 100:133–141. doi: 10.1016/j.ecss.2012.01.003
- Martínez-Pinto RW (2017) Biología reproductiva, dieta y pesca de la "pargueta" *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869), en el Área Natural Protegida, Los Cóbanos, Departamento de Sonsonete, El Salvador. Universidad de El Salvador
- Miller MP (2005) Alleles In Space (AIS): Computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. J Hered 96:722–724.
- Munguia-Vega A, Torre J, Castillo-Lopez A, Pfister T, Cudney-Bueno R (2010) Microsatellite loci for the blue swimming crab (*Callinectes bellicosus*) (crustacea: Portunidae) from the Gulf of California, Mexico. Conserv Genet Resour 2:135–137. doi: 10.1007/s12686-010-9192-7
- Munguia-Vega A, Jackson A, Marinone SG, Erisman B, Moreno-Baez M, Girón-Nava A, Pfister T, Aburto-Oropeza O, Torre J (2014) Asymmetric connectivity of spawning aggregations of a commercially important marine fish using a multidisciplinary approach. PeerJ 2:511.
- Munguia-Vega A, Marinone SG, Paz-Garcia DA, Giron-Nava A, Plomozo-Lugo T, Gonzalez-Cuellar O, Weaver AH, García-Rodriguez FJ, Reyes-Bonilla H (2018a) Anisotropic larval connectivity and metapopulation structure driven by directional oceanic currents in a marine fish targeted by small-scale fisheries. Mar Biol 165:16.
- Munguia-Vega A, Green AL, Suarez-Castillo AN, Espinosa-Romero MJ, Aburto-Oropeza O, Cisneros-Montemayor AM, Cruz-Piñón G, Danemann G, Giron-Nava A, Gonzales-Cuellar O, Lasch C, Mancha-Ciseneros MM, Guido-Marinone S, Moreno-Báez M, Morzaria-Luna HN, Reyes-Bonilla H, Torre T, Turk-Boyer P, Walther M, Hudson-Weaver A (2018b) Ecological guidelines for designing networks of marine reserves in the unique biophysical environment of the Gulf of California. Rev Fish Biol Fish 28:749– 776.
- Pacheco-Almanzar E, Loza-Estrada N, Ibáñez AL (2020) Do the Fish Scales Shape of Mugil curema Reflect the Genetic Structure Using Microsatellites Markers and the Mexican Marine Ecoregions Classification? Front Mar Sci. doi: 10.3389/fmars.2020.00166
- Pascual-Hortal L, Saura S (2006) Comparison and development of new graph-based landscape connectivity indices: towards the priorization of habitat patches and corridors for conservation. Landsc Ecol 21:959–967.
- Pascual M, Rives B, Schunter C, Macpherson E (2017) Impact of life history traits on gene flow: A multispecies systematic review across oceanographic barriers in the Mediterranean Sea. PLoS One 12:1–20.
- Paz-García DA, Munguía-Vega A, Plomozo-Lugo T, Hudson-Weaver A (2016)

Characterization of 32 microsatellite loci for the Pacific red snapper *Lutjanus peru* through next generation sequencing. Mol Biol Rep 44:251–256.

- Peakall R, Smouse PE (2012) GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28:2537–2539.
- Pegau WS, Boss E, Martínez A (2002) Ocean color observations of eddies during the summer in the Gulf of California. Geophys Res Lett 29:29–31.
- Peña R, Dumas S, Contreras-Olguín M (2017) Organogenesis of the digestive system in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) larvae. Aquac Res 48:1561–1575.
- Perez-Enriquez R, Taniguchi N (1999) Genetic structure of red sea bream (*Pagrus major*) population off japan and the southwest pacific, using microsatellite DNA markers. Fish Sci 65:23–30.
- Perez-Enriquez R, Valadez-Rodríguez JA, Max-Aguilar A, Dumas S, Diaz-Viloria N (2020) Parental contribution in a cultivated stock for the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) estimated by newly developed microsatellite markers. Lat Am J Aquat Res 48:247–256.
- Peterson BK, Weber JN, Kay EH, Fisher HS, Hoekstra HE (2012) Double digest RADseq: An inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and nonmodel species. PLoS One. doi: 10.1371/journal.pone.0037135
- Piñón A-, Amezcua F, Duncan N (2009) Reproductive cycle of female yellow snapper *Lutjanus argentiventris* (Pisces, Actinopterygii, Lutjanidae) in the SW Gulf of California: gonadic stages, spawning seasonality and length at sexual maturity. J Appl Ichthyol 25:18–25.
- Pliego-Cardenas R, Prieto SM, Apon MA, Markaida U, Barriga-Sosa IDLA (2020) Genetic structure of Octopus mimus Gould, 1852 along three biogeographic marine provinces.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data: Dominant markers and null alleles. Genetics 155:945–959. doi: 1
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. J Hered 3:248–249.
- Reguera-Rouzaud N, Díaz-Viloria N, Sánchez-Velasco L, Flores-Morales AL, Parés-Sierra A, Aburto-Oropeza O, Munguía-Vega A (2020) Yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) connectivity in the Southern Gulf of California. Mar Biodivers 50:1–14. doi: https://doi.org/10.1007/s12526-020-01070-y
- Reis-Santos P, Tanner SE, Aboim MA, Vasconcelos RP, Laroche J, Charrier G, Pérez M, Presa P, Gillanders BM, Cabral HN (2018) Reconciling differences in natural tags to infer demographic and genetic connectivity in marine fish populations. Sci Rep 8:10343.
- Rice WER (1989) Analyzing tables of statistical tests. Evolution (N Y) 43:223–225.
- Riginos C, Liggins L (2013) Seascape Genetics: Populations, Individuals, and Genes Marooned and Adrift. Geogr Compass 7:197–216.

Rocha-Olivares A (1998) Age, growth, mortality, and population characteristics of the Pacific

red snapper, Lutjanus peru, off the southeast coast of Baja California, Mexico. Fish Bull 96:562–574.

- Rocha-Olivares A, Sandoval-Castillo J (2003) Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the Pacific red snapper Lutjanus peru. Ciencias Mar 29:197–209.
- Rodríguez-Zárate CJ, Sandoval-Castillo J, van Sebille E, Keane RG, Rocha-Olivares A, Urteaga J, Beheregaray LB (2018) Isolation by environment in the highly mobile olive ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*) in the eastern pacific. Proc R Soc B Biol Sci 285:20180264.
- Rojas PA, Gutiérrez CF, Puentes V, Villa AA, Rubio EA (2004) Aspectos de la biología y dinámica poblacional del pargo coliamarillo *Lutjanus argentiventris* en el Parque Nacional Natural Gorgona, Colombia. Investig Mar 32:23–36.
- Romero-Torres M, Acosta A, Treml EA (2017) The regional structure of spawning phenology and the potential consequences for connectivity of coral assemblages across the Eastern Tropical Pacific. ICES J Mar Sci 74:613–624. doi: 10.1093/icesjms/fsw218
- Romero-Torres M, Treml EA, Acosta A, Paz-Garciá DA (2018) The Eastern Tropical Pacific coral population connectivity and the role of the Eastern Pacific Barrier. Sci Rep 8:1–13. doi: 10.1038/s41598-018-27644-2
- Ryman N, Palm S (2006) POWSIM: a computer program for assessing statistical power when testing for genetic differentiation. Mol Ecol 6:600–602.
- SAGARPA (2017) Anuario estadístico de acuacultura y pesca. Mazatán, Sinaloa. México
- Sala E, Aburto-Oropeza O, Paredes G, Thompson G (2003) Spawning aggregations and reproductive behavior of reef fishes in the Gulf of California. Bull Mar Sci 72:103–121.
- Sánchez-Velasco L, Lavín MF, Jiménez-Rosenberg S. A, Godínez VM, Santamaría-del-Angel E, Hernández-Becerril DU (2013) Three-dimensional distribution of fish larvae in a cyclonic eddy in the Gulf of California during the summer. Deep Res Part I 75:39–51. doi: 10.1016/j.dsr.2013.01.009
- Sandoval-Huerta ER, Beltrán-López RG, Pedraza-Marrón CR, Paz-Velásquez MA, Angulo A, Robertson DR, Espinoza E, Domínguez-Domínguez O (2019) The evolutionary history of the goby *Elacatinus puncticulatus* in the tropical eastern pacific: Effects of habitat discontinuities and local environmental variability. Mol Phylogenet Evol 130:269–285.
- Santamaría-Miranda A, Elorduy-Garay JF, Villalejo-Fuerte M, Rojas-Herrera AA (2003) Desarrollo gonadal y ciclo reproductivo de *Lutjanus peru* (Pisces: Lutjanidae) en Guerrero, México. Rev Biol Trop 51:489–501.
- Santiago-García MW, Marinone SG, Velasco-Fuentes OU (2014) Three-dimensional connectivity in the Gulf of California based on a numerical model. Prog Oceanogr 123:64–73. doi: 10.1016/j.pocean.2014.02.002
- Schuelke M (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. A poor man 's approach to genotyping for research and high-throughput diagnostics . Nat Am Inc 18:1–2. doi: 10.1038/72708

- Schunter C, Pascual M, Raventos N, Garriga J, Garza JC, Bartumeus F, Macpherson E (2019) Seascape genetics at its finest: dispersal patchiness within a well-connected population. bioRxiv 1–27. doi: 10.1101/530451
- Sefc KM, Wagner M, Zangl L, Weiß S, Steinwender B, Arminger P, Weinmaier T, Balkic N, Kohler T, Inthal S, Kovačić M, Zogaris S, Hahn C, Koblmüller S (2020) Phylogeographic structure and population connectivity of a small benthic fish (*Tripterygion tripteronotum*) in the Adriatic Sea. J Biogeogr 47:2502–2517.
- Selkoe KA, Toonen RJ (2006) Microsatellites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecol Lett 9:615–629.
- Sexton JP, Hangartner SB, Hoffmann AA (2013) Genetic isolation by environment or distance: Which pattern of gene flow is most common? Evolution (N Y) 68:1–15.
- Slatkin M (1985) Rare Alleles as Indicators of Gene Flow. Evolution (N Y) 39:53-65.
- Soria G, Munguía-Vega A, Marinone SG, Moreno-Báez M, Martínez-Tovar I, Cudney-Bueno R (2012) Linking bio-oceanography and population genetics to assess larval connectivity. Mar Ecol Prog Ser 463:159–175.
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge M a., Lombana A, Lourie S a., Martin KD, Mcmanus E, Molnar J, Recchia C a., Robertson J (2007) Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. Bioscience 57:573.
- Stobutzki IC, Bellwood DR (1997) Sustained swimming abilities of the late pelagic stages of coral reef fishes. Mar Ecol Prog Ser 149:35–41.
- Tinhan T, Erisman B, Aburto-Oropeza O, Weaver A, Vázquez-Arce D, Lowe CG (2014) Residency and seasonal movements in *Lutjanus argentiventris* and *Mycteroperca rosacea* at Los Islotes Reserve, Gulf of California. Mar Ecol Prog Ser 501:191–206.
- Torquato F, Range P, Ben-Hamadou R, Sigsgaard EE, Thomsen PF, Riera R, Berumen ML, Burt JA, Feary DA, Marshell A, D'Agostino D, DiBattista JD, Møller PR (2019) Consequences of marine barriers for genetic diversity of the coral-specialist yellowbar angelfish from the Northwestern Indian Ocean. Ecol Evol 9:11215–11226.
- Trejos-Castillo N, Vega A, Smith O, Morán M (2007) Diagnóstico del estado actual de los manglares, su manejo y relación con la pesquería en Panamá. Informe técnico final.
- Treml EA, Halpin PN, Urban DL, Pratson LF (2008) Modeling population connectivity by ocean currents, a graph-theoretic approach for marine conservation. Landsc Ecol 23:19–36.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Mol Ecol Notes 4:535–538.
- Vega AJ, Maté JL, Robles YA (2016) First report of reproductive aggregations for Pacific Red snappers *Lutjanus peru* (Nicholson and Murphy, 1992) and spotted rose snapper *L. guttatus* (Steindachner, 1869) in the Coiba National Park, Pacific of Panama. 68th Gulf Caribean Fish Insitute 112–117.
- Wallcraft AJ, Metzger EJ, Carroll SN (2009) Software Design Description for the HYbrid Coordinate Ocean Model (HYCOM). Arlington, VA

- Weeks R (2017) Incorporating seascape connectivity in conservation prioritisation. PLoS One 12:e0182396.
- Weir B. S., Cockerham C. (1984) Estimating F-Statistics for the Analysis of Population. Evolution (N Y) 38:1358–1370.
- Wilson GA, Rannala B (2003) Bayesian Inference of Recent Migration Rates Using Multilocus Genotypes. Genet Mol Biol 163:1177–1191.
- Wood S, Paris CB, Ridgwell a., Hendy EJ (2014) Modelling dispersal and connectivity of broadcast spawning corals at the global scale. Glob Ecol Biogeogr 23:1–11. doi: 10.1111/geb.12101
- Wood S, Baums IB, Paris CB, Ridgwell A, Kessler WS, Hendy EJ (2016) El Niño and coral larval dispersal across the eastern Pacific marine barrier. Nat Commun. doi: 10.1038/ncomms12571
- Woodings LN, Murphy NP, Doyle SR, Hall NE, Robinson AJ, Liggins GW, Green BS, Cooke IR, Bell JJ, Strugnell JM (2018) Outlier SNPs detect weak regional structure against a background of genetic homogeneity in the Eastern Rock Lobster, Sagmariasus verreauxi. Mar Biol. doi: 10.1007/s00227-018-3443-7
- Xuereb A, Benestan L, Normandeau É, Daigle RM, Curtis JMR, Bernatchez L, Fortin MJ (2018) Asymmetric oceanographic processes mediate connectivity and population genetic structure, as revealed by RADseq, in a highly dispersive marine invertebrate (Parastichopus californicus). Mol Ecol 27:2347–2364. doi: 10.1111/mec.14589
- Zamudio L, Hogan P, Metzger EJ (2008) Summer generation of the Southern Gulf of California eddy train. J Geophys Res 113:C06020.
- Zapata FA, Herrón PA (2002) Pelagic larval duration and geographic distribution of tropical eastern Pacific snappers (Pisces : Lutjanidae). Mar Ecol Prog Ser 230:295–300.
- Zárate-Becerra ME, Espino-Barr E, Puente-Gómez M, Garcia-Boa A, Cabral-Solís EG, Hernández-Montaño D, Meléndez-Galicia C, Arellano-Torres A, Gutiérrez-Zavala RM, Cabrera-Mancilla E, Gil-López HA, Labastida-Che A (2014) Huachinango del Pacífico Centro-Sur, costa de Nayarit a Chiapas. In: Sustentabilidad y pesca responsable en México. Evaluación y Manejo, 1ra edn. México, D.F.,
- Zavala-Sansón L (2015) Surface dispersion in the Gulf of California. Prog Oceanogr 137:24– 37. doi: 10.1016/j.pocean.2015.04.008

# 9. Anexos

# Anexo 1. Purificación con perlas

Las perlas que se utilizan para la limpieza del ADN están hechas de poliestireno, rodeadas por una capa de magnetita que está recubierta con moléculas de carboxilo. Son éstas las que se unen de forma reversible al ADN en presencia del polietilenglicol (PEG), que es el "agente de aglomeración" y sal (20% de PEG, NaCl 2.5M). El PEG hace que el ADN cargado negativamente se una con los grupos carboxilo en la superficie de las perlas (Fisher et al. 2011).

La longitud de los fragmentos de ADN que serán eluidos está determinada por la cantidad de perlas que se le agreguen (Figura), mientras menos perlas sean agregadas éstas atraparán fragmentos más grandes de ADN y viceversa.



**Figura.** Proporción de perlas a utilizar para limpiar cierta cantidad de pares de bases en la que se esté interesado.

El protocolo para la limpieza con perlas AMPure XP fue el siguiente:

- 1. Dejar que las perlas alcancen una temperatura ambiente y después se agitaron con un vortex.
- 2. Tomar la cantidad de ADN deseado a limpiar.

- 3. Agregar perlas a una proporción de 0.4X ya que en este caso solo se necesitaba recuperar la banda de alto peso molecular.
- 4. Se homogenizan gentilmente las perlas y el ADN con una pipeta.
- 5. Incubar 5 min a temperatura ambiente.
- Los tubos con las perlas y el ADN se ponen en una placa magnética y se dejan reposar 2 min.
- 7. Remover el sobrenadante, se debe tener cuidado de no perturbar las perlas al momento de meter la pipeta.
- 8. Agregar 200µl de etanol al 70% (recién preparado) y dejar reposar 30 s.
- 9. Remover el etanol con una pipeta (el tubo debe seguir en la placa magnética).
- 10. Hacer un segundo lavado con etanol al 70% y remover sobrenadante después de 30 s.
- 11. Se deja secar el etanol sobrante por alrededor de 5min (Se debe estar monitoreando para que las perlas no se sequen y cuarteen).
- 12. Resuspender en agua grado molecular (50 μl, puede ser menos para que el ADN esté más concentrado).
- 13. Sacar los tubos de la placa y homogenizar con la pipeta
- 14. Incubar a temperatura ambiente por 5 min.
- 15. Volver a poner los tubos en la placa magnética y dejar reposar 2 min.
- 16. Pasar sobrenadante a un tubo nuevo (Aquí se tiene el ADN del tamaño adecuado sin perlas) (Figura).



Figura. Pasos principales de la limpieza con perlas.

## Anexo 2. Hibridación de adaptadores y solución de trabajo

Este paso es necesario debido a que los adaptadores vienen en forma monocatenaria, es decir, en cadena sencilla de ADN. Por lo tanto, es necesario hibridarlos con su cadena complementaria. El protocolo de Peterson et al. (2012) proporciona 48 pares de adaptadores (P1.1 y P1.2) con su barcode exclusivo y un adaptador común Mspl (P2.1 y P2.2). Los adaptadores individuales sirven para identificar a los individuos y se adhieren al extremo cohesivo de la enzima EcoRI-HF, mientras que el adaptador común es para diferenciar poblaciones y se adhiere al extremo cohesivo de la enzima Mspl. Es importante que los adaptadores estén a la misma concentración al momento de ser hibridados.

Cabe mencionar que en cada par de adaptadores la cadena P1.2 y P2.2 tiene una molécula de fosfato (5'PO<sub>4</sub>) que sirve para unir lateralmente dos moléculas de ADN en presencia de la ligasa.

Para la hibridación:

- Preparar buffer de alineamiento 10 X (100mM Tris HCL pH 8, 500mM NaCl y 10mM EDTA)
- Colocar los 48 pares de adaptadores individuales P1.1 y P1.2 y el adaptador común P2.1 y P2.2 en tubos separados.
- Agregar a los adaptadores el buffer de alineamiento (1X) y agua grado molecular
- 4. Hibridar en el termociclador a 97.5°C por 2.5 min, bajar la temperatura a una tasa no mayor a 3°C cada minuto hasta llegar a los 21°C y mantener a 4°C.
- Es conveniente bajar la concentración de los adaptadores para hacerlos más manejables, es decir, a una concentración en donde se puedan tomar varios μl.

Una vez que los adaptadores han sido ligados, el siguiente paso es hacer la solución de trabajo para cada uno de los adaptadores (48 individuales y común), la cual se calcula basándose en la masa del ADN y la frecuencia de corte de las enzimas de restricción. Esto para lograr que el ADN se sature de adaptadores y que

todos los fragmentos alcancen a ligarse, según Peterson et al. (2012) colocar un exceso de adaptadores de 2 a 10 veces más es suficiente. El material suplementario del mismo autor lleva a una hoja de Excel en donde se pueden hacer los cálculos necesarios (ddRAD ligation molarity calculator).

La solución de trabajo se hace de la siguiente manera (colocando los datos en la hoja de Excel ver ejemplo en la Fig. 11):

- 1. Se debe seleccionar la concentración de la muestra con más ADN (previamente digerido y limpiado con perlas).
- 2. Colocar la frecuencia de corte de la enzima para el genoma. Para saber la frecuencia de corte de las enzimas, es necesario tener el genoma de referencia de la especie con la que se esté trabajando, sin embargo, encontrar el genoma completo de una especie en particular es complicado, por lo tanto, se busca el genoma completo de la especie que esté filogenéticamente más cercana.
- Se decide el exceso molar de adaptadores al ADN genómico. Entre 2-10X funciona correctamente.
- 4. Se decide la cantidad de adaptadores (previamente ligados) a agregar.
- 5. Se coloca la concentración a la que están los adaptadores
- Se decide el volumen (basado en el número de muestras a trabajar) a preparar de la solución de trabajo.
- Dependiendo de los datos que se hayan agregado a la hoja de Excel, se obtendrán el volumen del adaptador y la cantidad de buffer de alineamiento (1X) para hacer la solución de trabajo. Cada vez que se tomen 2μl de esta solución se tendrá el exceso de adaptadores que se haya decidido en el paso 3. En este momento se tiene una solución de trabajo con cada adaptador.

			Input appropriate values in green shaded fields
Initial DNA mass (ug)	0.13		mass of double-digested genomic DNA in ligation
	P1	P2	
cut frequency (bp)	3500	1800	average distance between sites for each enzyme (from genome
fragment mass (g/mole)	2310000	1188000	
sample mass (g)	1.30E-07	1.30E-07	
fragments/sample (moles)	5.63E-14	1.09E-13	
ends/sample (moles)	1.13E-13	2.19E-13	
ends/sample (pmoles)	0.11	0.22	
target adapter fold excess	5	5	molar excess of adapter to genomic DNA ends
target adapter/sample (pmoles)	0.56	1.09	
target adapter volume/rxn (ul)	2	2	desired amount of working adapter stock to add to ligation rxn
adapter working conc (pmol/ul)	0.28	0.55	
annealed adapter conc (pmol/ul)	4	4	concentration of annealed adapter stock
fold dilution to working stock	14.22	7.31	
volume of working stock to make (ul)	8.	15.	desired volume of working adapter stock
annealed adapter stock (ul)	0.56	2.05	
1x annealing buffer (ul)	7.44	12.95	
working stock to add to ligation (ul)	2	2	

**Figura.** Ejemplo de la hoja de cálculo para hacer la solución de trabajo. Los recuadros que están en verde son en donde se coloca la información.

**Cita:** Fisher S, Barry A, Abreu J, Minie B, Nolan J, Delorey TM, Young G, Fennell TJ, Allen A, Ambrogio L, Berlin AM, Blumenstiel B, Cibulskis K, Friedrich D, Johnson R, Juhn F, Reilly B, Shammas R, Stalker J, Sykes SM, Thompson J, Walsh J, Zimmer A, Zwirko Z, Gabriel S, Nicol R, Nusbaum C (2011) A scalable, fully automated process for construction of sequence-ready human exome targeted capture libraries. Genome Biol. doi: 10.1186/gb-2011-12-1-r1

**Anexo 3.** Tabla de pruebas de AMOVA jerárquico para Lutjanus peru con 13 microsatélites. Conquista Agraria (CAA), San Bruno (SBO), Loreto (LTO), Isla Espíritu Santo (IES), Guaymas (GUA), Topolobampo (TOP), Nayarit (NAY), Oaxaca (OAX), Panamá (PAN) y Colombia (COL).

Grupos	AMOVA (%)	Índices
1. CAA, SBO, LTO, ESI,		
GUA, TOP		
<b>2.</b> NAY	Entre grupos: 2.02	$F_{ST} = 0.016; p = 0$
<b>3.</b> OAX	Entre poblaciones dentro de grupos: 0.24	$F_{SC} = 0.003; p = 0.026$
4. PAN, COL	Dentro de poblaciones: 97.74	$F_{CT} = 0.014; p = 0$
1. CAA, SBO, LTO, IES,		
GUA, TOP		
<b>2.</b> NAY	Entre grupos: 1.9	$F_{ST} = 0.021; p = 0$
<b>3.</b> OAX	Entre poblaciones dentro de grupos: 0.20	$F_{\rm SC} = 0.002;  p = 0.076$
<b>4.</b> PAN	Dentro de poblaciones: 97.89	$F_{CT} = 0.019; p = 0$
5. COL		
1. CAA		
<b>2.</b> SBO, LTO, IES, GUA, TOP	Entre grupos: 1.6	$F_{ST} = 0.188; p = 0$
<b>3.</b> NAY	Entre poblaciones dentro de grupos: 0.27	$F_{SC} = 0.002; p = 0.024$
<b>4.</b> OAX	Dentro de poblaciones: 98.12	$F_{CT} = 0.016; p = 0$
<b>5.</b> PAN		
6. COL		

**Anexo 4.** Tabla de pruebas de AMOVA jerárquico para Lutjanus argentiventris con 11 microsatélites. San Bruno (SBO), Isla Espíritu Santo (IES), Altata (ALT), Colima (CMA) y Panamá (PAN).

Grupos	AMOVA (%)	Índices
1. SBO, IES, ALT	Entre grupos: 0.79	$F_{ST} = 0.02; p = 0$
<b>2.</b> CMA	Entre poblaciones dentro de grupos: 1.24	$F_{\rm SC} = 0.012;  p = 0.$
<b>3.</b> PAN	Dentro de poblaciones: 97.97	$F_{CT} = 0.007; p = 0.19$
1. SBO		
<b>2.</b> IES, ALT	Entre grupos: 1.35	$F_{ST} = 0.019; p = 0$
<b>3.</b> CMA	Entre poblaciones dentro de grupos: 0.52	$F_{SC} = 0.005; p = 0.12$
<b>4.</b> PAN	Dentro de poblaciones: 98.12	$F_{CT} = 0.014; p = 0.10$

**Anexo 5.** Diversidad genética de *Lutjanus peru* por población. Tamaño de muestra (*N*), número de alelos (*Na*), número de alelos efectivos (*Na*), heterocigocidad observada (*Ho*) y esperada (*He*), equilibrio de Hardy-Weinberg (*p*), frecuencia de alelos nulos (*NaF*) y el marcador fluorescente (dye). CAA = Conquista Agraria, SBO = San Bruno, LTO = Loreto, IES = Isla Espíritu Santo, GUA = Guaymas, TOP = Topolobampo, NAY = Nayarit, OAX = Oaxaca, PAN= Panama and COL = Colombia.

Locus (dye)	CAA	SBO	LTO	IES	GUA	TOP	NAY	OAX	PAN	COL
Lupe63 (VIC)										
Ν	44	43	41	47	41	40	48	46	26	23
Na	31	29	7	27	30	27	29	25	19	17
Ne	19.655	17.526	3.480	16.735	21.690	19.394	18.506	14.395	15.191	12.902
Но	0.955	0.930	0.610	0.957	1.000	0.975	0.896	0.935	0.769	0.826
Не	0.949	0.943	0.713	0.940	0.954	0.948	0.946	0.931	0.934	0.922
р	0.174	0.234	0.009	0.733	0.657	0.339	0.747	0.737	0.002*	0.001**
NaF	-0.003	0.007	0.060	-0.009	-0.024	-0.014	0.026	-0.002	0.085	0.050
Lupe39 (FAM)										
. N` ´	44	42	41	47	41	38	48	42	25	23
Na	35	30	21	26	32	25	29	24	21	19
Ne	22.126	17.294	15.144	17.124	20.500	17.610	17.323	14.519	11.905	13.921
Но	0.932	0.952	0.976	0.894	0.902	0.974	0.813	0.929	0.840	0.783
Не	0.955	0.942	0.934	0.942	0.951	0.943	0.942	0.931	0.916	0.928
р	0.254	0.598	0.217	0.107	0.289	0.622	0.000*	0.193	0.026	0.005**
NaF	0.012	-0.005	-0.022	0.025	0.025	-0.016	0.067	0.001	0.040	0.076†
Lupe62 (FAM)										
N	44	42	41	47	41	41	47	45	25	24
Na	22	22	26	26	24	21	26	28	17	18
Ne	12.821	12.293	14.246	15.078	15.858	16.163	13.720	15.882	8.170	7.432
Но	0.955	0.952	0.951	0.915	0.902	0.927	0.915	0.911	0.960	0.875
Не	0.922	0.919	0.930	0.934	0.937	0.938	0.927	0.937	0.878	0.865
р	0.002*	0.633	0.028	0.774	0.268	0.532	0.203	0.555	0.979	0.162
NaF	-0.017	-0.018	-0.011	0.010	0.018	0.006	0.006	0.013	-0.044	-0.005

Locus (dye)	CAA	SBO	LTO	IES	GUA	TOP	NAY	OAX	PAN	COL
Hogu25 (VIC)	-		_	_		_		-		
N N	44	43	40	47	41	41	45	46	26	24
Na	8	7	7	6	9	7	7	7	7	4
Ne	3.951	2.705	3.422	2.869	3.666	3.335	4.470	4.367	2.688	2.400
Но	0.591	0.605	0.600	0.447	0.512	0.585	0.800	0.543	0.654	0.667
He	0.747	0.630	0.708	0.651	0.727	0.700	0.776	0.771	0.628	0.583
p	0.004*	0.018	0.019	0.002*	0.000*	0.041	0.107	0.000*	0.103	0.148
NaF	0.089†	0.016	0.063	0.124†	0.125†	0.068	-0.013	0.129†	-0.016	-0.053
Lupe65 (PET)										
N N	43	42	41	47	41	39	48	46	25	24
Na	21	18	21	20	19	19	21	17	17	20
Ne	13.850	13.890	12.687	11.688	12.225	12.782	15.620	11.050	12.500	14.222
Но	0.767	0.690	0.854	0.745	0.805	0.795	0.896	0.717	0.760	0.708
Не	0.928	0.928	0.921	0.914	0.918	0.922	0.936	0.909	0.920	0.930
р	0.026	0.004*	0.052	0.002*	0.013	0.050	0.463	0.000*	0.040	0.000**
NaF	0.083†	0.123†	0.035	0.089†	0.059†	0.066†	0.021	0.101†	0.083†	0.115†
Lupe29 (NED)										
. N` ´	42	42	41	47	41	38	48	46	26	24
Na	14	13	14	15	15	12	3	5	2	2
Ne	8.400	8.481	10.066	10.469	11.132	7.293	2.042	2.135	2.000	2.000
Но	0.929	0.786	0.756	0.787	0.829	0.763	1.000	1.000	1.000	1.000
He	0.881	0.882	0.901	0.904	0.910	0.863	0.510	0.532	0.500	0.500
p	0.900	0.229	0.003*	0.042	0.696	0.011	0.000*	0.000*	0.000*	0.000**
NaF	-0.025	0.051	0.076†	0.062	0.042	0.054	-0.324	-0.306	-0.333	-0.333
Lgut21 (PET)										
N Í	44	43	41	47	40	41	48	44	26	23
Na	22	20	22	21	24	21	24	20	16	15
Ne	16.477	12.085	13.779	13.763	15.094	14.126	10.971	13.928	13.520	13.062

Anexo 5. Continuación

Locus (dye)	CAA	SBO	LTO	IES	GUA	TOP	NAY	OAX	PAN	COL
Но	0.864	0.721	0.780	0.766	0.950	0.829	0.750	0.750	0.615	0.913
Не	0.939	0.917	0.927	0.927	0.934	0.929	0.909	0.928	0.926	0.923
р	0.020	0.000*	0.000*	0.003*	0.605	0.030	0.014	0.001*	0.000*	0.055
NaF	0.039	0.102	0.076	0.084	-0.008	0.052	0.083	0.092	0.161	0.005
Lgut38 (FAM)										
Ν	44	42	41	47	41	41	48	46	26	24
Na	9	10	8	9	10	9	10	7	8	6
Ne	4.097	4.339	4.115	4.289	4.256	3.856	3.462	4.305	4.212	2.924
Но	0.682	0.619	0.732	0.702	0.634	0.707	0.667	0.652	0.731	0.750
Не	0.756	0.770	0.757	0.767	0.765	0.741	0.711	0.768	0.763	0.658
р	0.117	0.014	0.564	0.285	0.029	0.442	0.834	0.149	0.368	0.603
NaF	0.042	0.085	0.014	0.037	0.074	0.019	0.026	0.065	0.018	-0.056
Lupe21 (VIC)										
N N	41	43	41	47	41	41	48	45	26	23
Na	11	10	10	10	11	9	6	10	8	9
Ne	4.810	5.399	3.695	4.053	5.204	4.171	3.752	4.671	4.863	4.809
Но	0.854	0.814	0.683	0.745	0.756	0.854	0.417	0.800	0.731	0.870
Не	0.792	0.815	0.729	0.753	0.808	0.760	0.734	0.786	0.794	0.792
р	0.870	0.643	0.779	0.184	0.065	0.685	0.000*	0.797	0.369	0.147
NaF	-0.034	0.000	0.027	0.005	0.029	-0.053	0.183	-0.008	0.035	-0.043
Lupe23 (VIC)										
N	44	43	41	47	41	41	47	46	26	23
Na	26	25	25	24	24	23	24	26	20	20
Ne	14.667	15.094	16.242	14.727	17.695	12.181	17.743	15.333	10.903	8.966
Но	0.955	0.907	0.951	0.915	0.951	0.927	0.872	0.978	0.923	0.783
Не	0.932	0.934	0.938	0.932	0.943	0.918	0.944	0.935	0.908	0.888
p	0.915	0.373	0.306	0.556	0.191	0.005	0.149	0.520	0.517	0.011
NaF	-0.012	0.014	-0.007	0.009	-0.004	-0.005	0.037	-0.023	-0.008	0.056

Anexo 5. Continuación

Locus (dye)	CAA	SBO	LTO	IES	GUA	TOP	NAY	OAX	PAN	COL
Lupe13 (NED)										
. N Í	44	42	41	46	40	41	47	46	25	21
Na	15	14	17	16	16	14	13	15	12	10
Ne	10.465	6.959	8.778	10.198	7.289	9.497	7.617	8.046	7.485	4.302
Но	0.909	0.833	0.902	0.826	0.825	0.683	0.745	0.761	0.760	0.952
Не	0.904	0.856	0.886	0.902	0.863	0.895	0.869	0.876	0.866	0.768
р	0.802	0.515	0.419	0.187	0.008	0.002*	0.479	0.031	0.362	0.015
NaF	-0.002	0.012	-0.009	0.040	0.020	0.112	0.066	0.061	0.057	-0.105
Lupe34 (PET)										
. N` ´	44	40	41	45	39	40	48	46	25	23
Na	15	13	16	13	16	13	14	10	11	10
Ne	7.934	7.240	9.236	6.841	7.025	6.639	7.014	6.451	6.345	4.681
Но	0.864	0.900	0.829	0.867	0.821	0.900	0.792	0.000	0.680	0.565
Не	0.874	0.862	0.892	0.854	0.858	0.849	0.857	0.845	0.842	0.786
р	0.580	0.893	0.398	0.643	0.411	0.992	0.019	0.000*	0.545	0.003**
NaF	0.006	-0.021	0.033	-0.007	0.020	-0.027	0.035	0.458	0.088	0.124
Lgut34 (VIC)										
Ν	44	43	39	46	41	40	46	46	25	24
Na	22	21	23	23	21	21	22	26	21	18
Ne	14.892	14.733	15.364	15.007	17.153	16.667	14.154	17.932	13.736	13.241
Но	0.886	0.930	0.949	0.870	0.927	0.900	0.826	0.870	0.840	0.667
Не	0.933	0.932	0.935	0.933	0.942	0.940	0.929	0.944	0.927	0.924
р	0.204	0.496	0.963	0.292	0.617	0.254	0.039	0.008	0.018	0.000**
NaF	0.024	0.001	-0.007	0.033	0.008	0.021	0.054	0.038	0.045	0.134
Lgut15 (NED)										
Ν	44	43	37	47	41	41	47	45	26	24
Na	12	13	12	16	13	14	18	15	14	10

Anexo 5. Continuación

Locus (dye)	CAA	SBO	LTO	IES	GUA	ТОР	NAY	OAX	PAN	COL
Ne	7.319	6.072	5.316	7.591	5.708	6.392	7.231	8.116	7.005	6.227
Но	0.727	0.605	0.676	0.702	0.707	0.707	0.681	0.778	0.731	0.500
Не	0.863	0.835	0.812	0.868	0.825	0.843	0.862	0.877	0.857	0.839
р	0.044	0.000*	0.418	0.227	0.124	0.005	0.002*	0.075	0.295	0.000**
NaF	0.073†	0.132†	0.075†	0.089†	0.064†	0.074†	0.097†	0.053†	0.068	0.184†

Anexo 5. Continuación

\*p < 0.0038; \*\* p < 0.005; † presencia de alelos nulos

**Anexo 6.** Diversidad genética de *Lutjanus argentiventris* por población. Tamaño de muestra (*N*), número de alelos (*Na*), número de alelos efectivos (*Na*), heterocigocidad observada (*Ho*) y esperada (*He*), equilibrio de Hardy-Weinberg (*p*), frecuencia de alelos nulos (*NaF*) y el marcador fluorescente (dye). SBO = San Bruno, ESI = Isla Espíritu Santo, ALT = Altata, CMA = Colima and PAN = Panamá.

Locus (dye)	SBO	IES	ALT	СМА	PAN
Lgut19 (FAM)					
N	36	25	31	24	23
Na	10	9	9	9	10
Ne	6.930	5.787	6.261	6.583	6.116
Но	0.806	0.840	0.871	0.875	0.826
He	0.856	0.827	0.840	0.848	0.836
р	0.593	0.102	0.874	0.123	0.394
NaF	0.027	-0.007	-0.017	-0.015	0.006
Larg05 (NED)					
N	36	24	31	27	23
Na	17	15	19	16	15
Ne	6.416	6.508	10.678	7.554	9.281
Но	0.806	0.833	0.806	0.741	0.870
He	0.844	0.846	0.906	0.868	0.892
р	0.407	0.779	0.072	0.097	0.194
NaF	0.021	0.007	0.052†	0.068†	0.012
Larg11 (VIC)					
N	36	25	31	27	23
Na	5	5	5	4	4
Ne	2.473	3.415	2.890	2.581	2.537
Но	0.583	0.680	0.677	0.444	0.826
Не	0.596	0.707	0.654	0.612	0.606
р	0.924	0.766	0.934	0.042	0.029*
NaF	0.008	0.016	-0.014	0.104	-0.137
Larg19 (FAM)					
N	36	22	31	27	23
Na	3	5	4	2	2
Ne	1.944	2.283	2.096	2.000	2.000
Но	0.500	0.591	0.387	0.481	0.565
He	0.486	0.562	0.523	0.500	0.500
р	1.000	0.093	0.088	1.000	0.690
NaF	-0.010	-0.019	0.089	0.012	-0.044
Larg01 (NED)					
	36	25	31	26	23
Na	17	14	17	13	14
Ne	8.229	7.813	9.907	9.797	9.706
Но	0.806	0.920	0.871	0.885	0.826
He	0.878	0.872	0.899	0.898	0.897
р	0.290	0.995	0.520	0.598	0.784
NaF	0.039	-0.026	0.015	0.007	-0.044

	-	~			
A novo	-	1.0	n+1 n	 A1A1	•
ATIEX()	n			(:())	
/ 11/0/10	<b>~</b> .	~~			

	SBO	IES		CMA	DAN
	0.020	0.026			
INdF	0.039	-0.020	0.015	0.007	-0.044
Larg04 (VIC)					
N	33	24	30	27	22
Na	11	10	11	10	18
Ne	6.188	7.385	6.228	7.839	13.081
Но	0.515	0.792	0.900	0.852	1.000
Не	0.838	0.865	0.839	0.872	0.924
р	0.000*	0.549	0.795	0.356	1.000
NaF	0.176†	0.039	-0.033	0.011	-0.040
Lupe44 (NED)					
. N` ´	35	25	31	27	22
Na	22	17	22	18	18
Ne	7.778	9.470	12.165	9.720	10.637
Но	0.914	0.800	0.645	0.889	0.818
Не	0.871	0.894	0.918	0.897	0.906
р	0.228	0.079	0.000*	0.459	0.233
NaF	-0.023	0.050	0.142	0.004	0.037
Lupe65 (VIC)					
. N` ´	34	24	30	26	23
Na	16	15	14	13	14
Ne	10.753	6.898	5.863	5.778	8.266
Но	0.941	0.833	0.900	0.731	0.957
He	0.907	0.855	0.829	0.827	0.879
р	0.225	0.535	0.289	0.152	0.492
NaF	-0.018	0.012	-0.039	0.053	-0.041
Hogu77 (PET)					
N	36	25	31	26	23
Na	2	2	2	2	3
Ne	1.087	1.041	1.033	1.122	1.827
Но	0.083	0.040	0.032	0.038	0.565
He	0.080	0.039	0.032	0.109	0.453
<u>р</u>	1.000	0.900	0.900	0.059	0.559
NaF	-0.003	-0.001	-0.001	0.063	-0.077
Lupe61 (FAM)					
Ň	36	24	31	27	23
Na	11	10	14	10	10
Ne	5.355	4.861	5.354	5.523	5.264
Но	0.722	0.625	0.774	0.704	0.739
Не	0.813	0.794	0.813	0.819	0.810
<u>р</u>	0.319	0.005	0.594	0.094	0.569
NaF	0.050	0.094	0.022	0.063	0.039

Locus (dye)	SBO	IES	ALT	СМА	PAN
Larg27 (FAM)					
Ν	36	25	31	27	23
Na	5	8	6	6	5
Ne	2.325	2.822	2.604	2.083	3.286
Но	0.528	0.640	0.581	0.519	0.783
He	0.570	0.646	0.616	0.520	0.696
р	0.288	0.681	0.823	0.659	0.861
NaF	0.027	0.003	0.022	0.001	-0.051

Anexo 6. Continuación

0 Accepted: 21 December 2020

DOI: 10.1111/jfb.14656

## **REGULAR PAPER**

# 

# Drivers for genetic structure at different geographic scales for Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) and yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) in the tropical eastern Pacific

# Nicole Reguera-Rouzaud<sup>1</sup> | Noé Díaz-Viloria<sup>1</sup> | Ricardo Pérez-Enríquez<sup>2</sup> | Elaine Espino-Barr<sup>3</sup> | Mailin Isabel Rivera-Lucero<sup>4</sup> | Adrián Munguía-Vega<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Plancton y Ecología Marina, Instituto Politécnico Nacional–Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (IPN-CICIMAR), La Paz, Mexico

<sup>2</sup>Departamento de Acuicultura, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, Mexico

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Pesca, CRIP-Manzanillo, Playa Ventana, Colima, Mexico

<sup>4</sup>Universidad Marítima Internacional de Panamá (UMIP), La Boca, Ancón, Panama

<sup>5</sup>Conservation Genetics Laboratory & Desert Laboratory on Tumamoc Hill, University of Arizona, Tucson, Arizona

<sup>6</sup>@Lab Applied Genomics, La Paz, Mexico

#### Correspondence

Noé Díaz-Viloria, Departamento de Plancton y Ecología Marina, Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (IPN-CICIMAR), La Paz, B.C.S., 23096, Mexico. Email: ndiazv@ipn.mx

Adrián Munguía-Vega, Conservation Genetics Laboratory & Desert Laboratory on Tumamoc Hill, University of Arizona, Tucson, AZ 85721, USA.

Email: airdrian@email.arizona.edu

#### Funding information

This research was supported by grants from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) to Noé Díaz-Viloria (CB2015-257019). Nicole Reguera-Rouzaud was recipient of a CONACyT scholarship (No. 703296).

#### Abstract

The tropical eastern Pacific (TEP) is a highly dynamic region and a model system to study how habitat discontinuities affect the distribution of shorefishes, particularly for species that display ontogenetic habitat shifts, including snappers (Lutjanidae). To evaluate the genetic structure of the Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) and the yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) throughout their distribution range along the TEP, 13 and 11 microsatellite loci were analysed, respectively. The genetic diversity of *L. peru* (N = 446) and *L. argentiventris* (N = 170) was evaluated in 10 and 5 localities, respectively, showing slightly higher but non-significant values in the Gulf of California for both species. The genetic structure analysis identified the presence of significant genetic structure in both species, but the locations of the identified barriers for the gene flow differed between species. The principal driver for the genetic structure at large scales >2500 km was isolation by distance. At smaller scales (<250 km), the habitat discontinuity for juveniles and adults and the environmental differences throughout the distribution range represented potential barriers to gene flow between populations for both species.

#### KEYWORDS

Gulf of California, habitat discontinuity, isolation by distance, larval dispersal, microsatellites

## 1 | INTRODUCTION

Seascape connectivity (the connectedness among different habitats in a seascape) is essential for species that use more than one habitat during their life cycle (Weeks, 2017) and play an important role in population dynamics and genetic diversity (Blanco-Gonzalez *et al.*, 2016; Cowen *et al.*, 2007). Understanding how connectivity is maintained is crucial for effective fisheries management (Schunter *et al.*, 2019) and conservation (Reis-Santos *et al.*, 2018). Some species of marine fishes present genetic breaks because of historical and contemporary processes that act as barriers to larval dispersal and gene flow (Blanco-Gonzalez *et al.*, 2016; Hellberg *et al.*, 2002). These include habitat discontinuities (Blanco-Gonzalez *et al.*, 2016; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Torquato *et al.*, 2019) and strong environmental gradients (García-De León *et al.*, 2018; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). In addition, the life cycle of each species, including the breeding season, dispersal ability (Frisk *et al.*, 2012;

IOURNAL OF **FISH** BIOL OGY

Treml *et al.*, 2012) and the location of the habitats for juveniles and adults, plays an important role in population demography, connectivity and the location of those genetic breaks (Berkström *et al.*, 2020; Blanco-Gonzalez *et al.*, 2016; Pascual *et al.*, 2017).

The Pacific red snapper [*Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922)] and yellow snapper [*Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869)] are considered important food and economic resources in several coastal communities along the tropical eastern Pacific (TEP) (Gold *et al.*, 2015). They share most of their distribution range from the Gulf of California (GC), Mexico to Peru. The only difference being that the distribution of *L. peru* starts from Magdalena Bay, Mexico, and *L. argentiventris* from southern California, U.S.A. (Fischer *et al.*, 1995; Zárate-Becerra *et al.*, 2014) (Supporting Information SUPPORTING INFORMATION SI 1).

The spawning period of these species varies throughout the GC and the TEP and is related to environmental conditions, principally temperature (Erisman *et al.*, 2010; Gallardo-Cabello *et al.*, 2010; Lucano-Ramírez *et al.*, 2014; Piñón *et al.*, 2009; Rojas *et al.*, 2004; Trejos-Castillo *et al.*, 2007; Vega *et al.*, 2016; Zárate-Becerra *et al.*, 2014). The planktonic larval period is *c*. 30 days (Claro and Lindeman, 2008) and the adults display ontogenetic habitat shifts. The juvenile recruitment habitat of *L. peru* is in soft bottoms (Rocha-Olivares, 1998), whereas in *L. argentiventris* it is in mangroves (Aburto-Oropeza *et al.*, 2009; Zapata and Herrón 2002). Once juveniles reach adulthood, both species occur in rocky reef habitats and seamounts (30–100 m depth for *L. peru* and 0–60 m for *L. argentiventris*) (Fischer *et al.*, 1995; Gallardo-Cabello *et al.*, 2010; Green *et al.*, 2015; Tinhan *et al.*, 2014).

The planktonic larval phase (Peña *et al.*, 2017; Zapata and Herrón, 2002) and ontogenetic habitat shifts (Berkström *et al.*, 2020), together with physical factors such as geographic distances, marine currents, habitat discontinuities and environmental differences (temperature and salinity) (Berkström *et al.*, 2012, 2020; Blanco-Gonzalez *et al.*, 2016; García-De León *et al.*, 2018; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020), are the main processes determining genetic structure or homogenization of the populations (Reis-Santos *et al.*, 2018; Schunter *et al.*, 2019).

Several studies have identified how these physical factors facilitate or restrict gene flow between populations of rocky reef fishes (Riginos and Liggins, 2013). Genetic structure because of isolation by distance has been found at scales  $\geq$ 1000 km (Dalongeville *et al.*, 2018; Kennington *et al.*, 2017), whereas on smaller scales the genetic structure is caused mainly by larval dispersal driven by ocean currents (Dalongeville *et al.*, 2018; Perez-Enriquez and Taniguchi, 1999). The availability of nursery habitats near rocky reefs within a radius of 150 km from mangroves also increases the abundance and connectivity of snappers (Berkström *et al.*, 2020). In this regard, habitat discontinuities, strong environmental gradients and permanent oceanographic fronts have been reported to be physical barriers to gene flow (Blanco-Gonzalez *et al.*, 2016; García-De León *et al.*, 2018).

Particularly in *L. peru*, previous phylogeographic studies using mitochondrial DNA have reported panmixia. This is probably explained by wide larval dispersal over long temporal scales in the southern GC (Rocha-Olivares and Sandoval-Castillo, 2003) and

through its distribution range in the TEP (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020). In contrast, a microsatellite study in the southern GC found low but significant levels of population structure explained by the strong asymmetry in the oceanic currents (Munguia-Vega *et al.*, 2018a). In *L. argentiventris*, Reguera-Rouzaud *et al.* (2020) reported no significant genetic differentiation among peninsular and mainland sites in the southern GC; nonetheless, a metapopulation structure was present because of the presence of eddies in contact with the two coast lines.

The authors hypothesized that connectivity in *L. peru* and *L. argentiventris* at large scales (>150 km) is driven by isolation by distance patterns, where extensive areas of non-optimal habitat for the recruitment of juveniles and adults and strong environmental gradients could act as barriers to gene flow. Therefore, the aim of this study was to evaluate the genetic structure of *L. peru* and *L. argentiventris* in the TEP and how the environmental factors such as the patchy distribution of juvenile and adult habitats and the oceano-graphic conditions throughout their distribution range can affect patterns of gene flow.

Microsatellite markers were used because they are very informative to infer fine-scale population structure (Liu *et al.*, 2005) and are sensitive to recent demographic events (Fischer *et al.*, 2017). In addition, a seascape connectivity approach was taken to better understand the implications of the ontogenetic habitat shifts and the habitat patches in the genetic structure of both species.

### 2 | MATERIALS AND METHODS

Fin clips of *L. peru* from 10 locations (n = 446) and *L. argentiventris* from five locations (n = 171) were collected along the TEP from México, Panamá and Colombia (Figure 1, Supporting Information SUPPORTING INFORMATION SI 2) and preserved in 80% ethanol for subsequent genetic analysis. DNA extraction was carried out with the modified salt extraction method of Lopera-Barrero *et al.* (2008).

A total of 14 (Supporting Information SUPPORTING INFORMA-TION SI 3) and 12 (Supporting Information SUPPORTING INFORMA-TION SI 4) microsatellite loci were amplified for *L. peru* (Paz-García *et al.*, 2016, Perez-Enriquez *et al.*, 2020) and *L. argentiventris* (Perez-Enriquez *et al.*, 2020, Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020), respectively. For the PCR, a touchdown protocol (Munguía-Vega *et al.*, 2013) was used with a fluorescent label M13 primer (Schuelke, 2000) in a thermal cycler (Applied Biosystems MiniAmp Plus). The PCR products were sent for fragment analysis to the University of Arizona Genetics Core (USA).

#### 2.1 | Genetic diversity and genetic structure

Genotyping for both species was performed in GeneMarker (SoftGenetics 2012) and classified into bins where absolute allele lengths were converted into allele classes with FLEXIBIN (Amos *et al.*, 2007). Individuals that had >10% of missing data in all loci were



**FIGURE 1** Sampling sites for *Lutjanus peru* (circles), *Lutjanus argentiventris* (triangles) and common sites for both species (squares). SBO: San Bruno; LTO: Loreto; ESI: Espiritu Santo Island; CAA: Conquista Agraria; GUA: Guaymas; TOP: Topolobampo; ALT: Altata; NAY: Nayarit; CMA: Colima; OAX: Oaxaca; PAN: Panama; COL: Colombia. The black line in the map represents the borders of the countries and the grey line the states of Mexico

eliminated. The Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) test was carried out in Genepop (Raymond and Rousset, 1995), and the linkage disequilibrium (LD) was evaluated in FSTAT (Goudet, 1995). The level of significance of multiple tests in HWE and LD was adjusted ( $\alpha = 0.05$ ) with the sequential Bonferroni approach (Rice, 1989) for each locality. Null allele frequencies were estimated with the Brookfield method in Micro-checker (Van Oosterhout *et al.*, 2004). To evaluate the effect of null alleles in the population structure, the loci that had a mean frequency of null alleles  $\geq 0.05$  were the candidates to be removed from the data set. The number of alleles per locus (*Na*), effective number of alleles (*Nef*), the expected (*He*) and observed (*Ho*) heterozygosities and the allelic frequencies were estimated using GeneAlEx (Peakall and Smouse, 2012). To test for significant differences in the diversity indexes for all localities for *L. peru* and *L. argentiventris*, a nonparametric Kruskal–Wallis test was performed for *Na*, *Nef*, *Ho* and *He*.

To assess the statistical power to detect genetic population differences, with the set of microsatellite loci used in this study, the software POWSIM (Ryman and Palm, 2006) was implemented. A total of 13 and 11 microsatellite loci for *L. peru* and *L. argentiventris*, respectively, were evaluated with the following recommended parameters by the POWSIM manual: Fisher's exact test (10,000 dememorizations, 1000 batches, 10,000 iterations per batch), 200 replicates and effective population size of 2000. A total of 32 and 28 generations of drift were chosen according to predefined  $F_{ST}$  values of 0.008 for *L. peru* and 0.009 for *L. argentiventris*, respectively. These  $F_{ST}$  values were the smallest values that showed significant differences in the pair-wise  $F_{ST}$  analysis.

IRNAL OF **FISH** BIOLOGY

Genetic population difference was assessed with the global  $F_{ST}$  (Weir and Cockerham, 1984), pair-wise  $F_{ST}$  and global and hierarchical AMOVA among locations with the software ARLEQUIN ver. 3.5.1.2. (Excoffier *et al.*, 2005). For the hierarchical AMOVA, several combinations of groups were tested; only the combination with the highest explained variance was chosen. The levels of significance of multiple tests in the pair-wise  $F_{ST}$  were adjusted ( $\alpha = 0.05$ ) with the sequential Bonferroni approach (Rice, 1989).

To determine the population structure, the software STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) was run with the following parameters: admixture model, allele frequencies correlated and 1000,000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) of which the first 25% were discarded as burnin. Based on the groups formed by the hierarchical AMOVA, K = 1-4 for *L. argentiventris* and K = 1-7 for *L. peru* were chosen, with 10 iterations per *K* (Hubisz *et al.*, 2009). The most likely *K* was selected using CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015).

A discriminant analysis of principal components (DAPC) with Adegenet for *R* was also used (Jombart *et al.*, 2008, 2010) The DAPC was divided into two steps: first, a principal component analysis (PCa) was used and then the DAPC. For *L. peru*, 200 PCa and four clusters indicated by the Bayesian information criterion (BIC) were retained, and for the DAPC 100 PCa and nine eigenvalues were retained. For *L argentiventris*, 120 PCa and three clusters indicated by the BIC were retained, and for the DAPC 60 PCa and four eigenvalues were retained.

To assess isolation by distance for *L. peru* and *L. argentiventris*, a correlation between the genetic ( $F_{ST}$ ) and geographic distances (km) was carried out by a Mantel test with 10,000 permutations in the software ARLEQUIN.

Gene flow was estimated for both species with the method of private alleles [average number of migrants between locations (*Nm*)]:  $e^{((\ln(pl) + 2.44)/ - 0.505)}$  (Slatkin, 1985), where *pl* was the mean frequency of private alleles.

#### 2.2 | Habitat distribution and niche modelling

The influence of the habitat discontinuity on the genetic structure for juveniles (mangroves and soft bottoms) and adults (rocky reefs) of L. peru and L. argentiventris was evaluated. Shapefile layers of rocky reefs, mangroves and soft bottoms which form the GC and the TEP were obtained from Halpern et al. (2019), Munguia-Vega et al. (2018b) and the global mangrove watch (GMW 2016; https:// www.globalmangrovewatch.org/). Only the mangrove shapefile had to be joined in 75 km quadrants because of a large amount of information (>30,000 polygons). The shapefile habitats used by L. peru were bounded by the 100 m isobath and for L. argentiventris by the 60 m isobath, which are the maximum depths at which they are present. In the software QGIS, the plugin for CONEFOR (Pascual-Hortal and Saura, 2006) was used to measure the distance between polygons for each habitat. The threshold distance for connecting polygons was 150 km, and the maximum threshold for link removal from the analysis was 151 km. This is the estimated distance for larval dispersal at 20–26 days of the pelagic stage for several snappers such as *L. peru* (Munguia-Vega *et al.*, 2018a), *L. argentiventris* (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020), *L. campechanus* (Poey, 1860), (Johnson and Perry 2020), *L. synagris* (L., 1758), *L. analis* (Cuvier, 1828), *L. jocu* (Bloch & Schneider, 1801), *L griseus* (L., 1758) and *L. cyanopterus* (Cuvier, 1828) (Kough *et al.*, 2016). With this information, a graphical theoretical approach (Treml *et al.*, 2008) was used in the software GEPHI (Bastian *et al.*, 2009) to construct a spatial network of polygons connected by links representing the habitat patches that were connected.

The niche modelling was performed to compensate for the lack of genetic samples from southern Mexico to Colombia, where populations of *L. peru* and *L. argentiventris* potentially could be present and represent an important link between sampled sites. The occurrences of *L. peru* (113) and *L. argentiventris* (571) were downloaded from the global biodiversity information facility (GBIF; www.gbif.org) with the following filters: human observation, material sample and preserved specimen. Environmental data based on monthly averages of bio-ORACLE were used [temperature (°C), salinity, chlorophyll-*a* (mg m3<sup>-1</sup>), dissolved oxygen concentration (mol m3<sup>-1</sup>), pH, silicate (mol m3<sup>-1</sup>), phosphate (mol m3<sup>-1</sup>) and nitrate (mol m3<sup>-1</sup>)], from 2000 to 2014 (Assis *et al.*, 2018).

To obtain the probability of occurrence for both species, the occurrences and oceanographic data were processed in ModestR (García-Roselló *et al.*, 2013). Only the GBIF records from the adjacent Pacific (Conquista Agraria, only for *L. peru*) and from GC to Colombia were considered. The data were filtered following García-Roselló *et al.*, (2014). A density map to calculate the extent of occurrence of the species was used, the percentage of contribution of each oceanographic variable was assessed and, finally, the niche of occurrence was calculated based on the extent of occurrence (García-Roselló *et al.*, 2013, 2014).

To evaluate if the environmental differences between the ecoregions (Magdalena transition, Cortezian, Mexican tropical Pacific, Chiapas-Nicaragua, Nicoya and Panamá Bight) (Spalding *et al.*, 2007) could represent a barrier to the gene flow, the bio-ORACLE oceanographic variables were extracted for each occurrence for both species and processed with a discriminant analysis in RWizard (http://www. ipez.es/RWizard/).

#### 2.3 | Ethical statement

In Mexico, Panama and Colombia, the samples were collected by local fishermen. In Mexico, the authors collected the samples from the fishing cooperatives. Samples from Panama and Colombia were imported to Mexico with permits B00.02.04.657/2017 and B00.02.04.0020-2019, respectively.

### 3 | RESULTS

#### 3.1 | Genetic diversity

For *L. peru*, the mean values of the number of alleles (13.9–19.5), effective alleles (8.1–12.2), private alleles (0.3–1.5) and the observed

and expected heterozygosities (0.757-0.843 and 0.805-0.886. respectively) showed high levels of genetic diversity, and higher values in the GC (Espiritu Santo Island, Loreto, San Bruno, Guaymas and Topolobampo) and Conquista Agraria (Table 1). The differences, nonetheless, were not statistically significant (P > 0.05). After the HWE test, 31 combinations (locus and location) from 140 were statistically significant after the sequential Bonferroni test (P < 0.0038 and P < 0.005) (Supporting Information SUPPORTING INFORMATION SI 3). From the 91 tests to prove LD for each locality, only two combinations (Lupe63-Hogu25 from Loreto and Lupe39-Lgut34 for Colombia) were statistically significant after the sequential Bonferroni test (P < 0.0005). Evidence of null alleles was found in all microsatellite loci but not consistently in all populations (-0.33 to 0.42 frequency range). Lupe65, Lgut21, Hogu25 and Lgut15 presented high null allele frequencies, but Lgut15 had null alleles in all locations and for this reason was removed from the data set (for detailed information, see Supporting Information SI 3); therefore, all the subsequent analyses were performed with 13 microsatellite loci.

For L. argentiventris, Lupe34 was removed from the data set because of an unreliable pattern in the electropherograms and nonspecific amplification at the samples of Colima. Therefore, all the analyses were performed with 11 microsatellite loci. The mean values of the number of alleles (9.4-11.2), effective alleles (5.3-5.9), private alleles (0.3-1.5) and the observed and expected heterozygosities (0.651–0.774 and 0.704–0.755, respectively) showed medium levels of genetic diversity and did not present a clear latitudinal pattern. Only the Na showed slightly higher values in the GC (Espiritu Santo Island, San Bruno and Altata). The differences, nonetheless, were not statistically significant (P > 0.05) (Table 1). After the HWE test, 4 combinations (locus and locality) from 60 presented statistically significant deviations after the sequential Bonferroni test (P < 0.03) (Supporting Information SUPPORTING INFORMATION SI 4). From the 66 LD tests for each locality, one loci combination (Lupe44-Larg27 from San Bruno) was in LD (P < 0.005). Finally, evidence of null alleles was detected in a few locations (-0.31 to 0.17 range frequency); Lupe61 was the microsatellite with the highest frequencies.

#### 3.2 | Genetic structure

The statistical power of the 13 and 11 microsatellite loci for *L. peru* and *L. argentiventris*, respectively, was 100% in both cases. In *L. peru*, the global AMOVA with ( $F_{ST} = 0.0148$ , P = 0) and without ( $F_{ST} = 0.0159$ , P = 0) the three loci with high null allele frequencies (*Lupe65, Lgut21* and *Hogu25*), did not show significant differences; therefore, the 13 loci were used in all the subsequent analyses. The pair-wise  $F_{ST}$  among distant locations showed significant differences that ranged from 0.009 to 0.034, but the  $F_{ST}$  values between close locations in the GC (San Bruno, Espiritu Santo Island, Guaymas and Topolobampo) and adjacent Pacific (Conquista Agraria) showed non-significant values that ranged from 0.000 to 0.003 ( $F_{ST} = 0.0019$ , P = 0.76). Comparisons between Oaxaca-Panama and Panama-Colombia showed no differences (Table 2).
						Y fsbi	1271
						North Ready	
diversity	Species/locations	N	Na	Nef	Npa	Но	Не
u and 11	L. peru						
entiventris	CAA	43.5	19.5	11.9	1.2	0.843	0.886
	SBO	42.3	17.8	10.6	0.3	0.818	0.872
	LTO	40.8	18.0	11.1	0.7	0.838	0.877
	ESI	46.7	18.2	11.0	0.4	0.803	0.873
	GUA	40.7	19.3	12.2	0.7	0.832	0.885
	ТОР	40.2	17.0	11.1	0.2	0.832	0.873
	NAY	47.4	17.5	10.5	0.3	0.799	0.845
	OAX	45.4	16.9	10.2	0.3	0.757	0.853
	PAN	25.5	13.8	8.7	0.1	0.789	0.831
	COL	23.3	12.9	8.1	0.1	0.797	0.805
	Global diversity (all samples)	395.7	26.8	12.9	-	0.811	0.885
	L. argentiventris						
	SBO	35.5	10.8	5.4	1.5	0.655	0.704
	ESI	24.4	10.0	5.3	0.5	0.690	0.719
	ALT	30.8	11.2	5.9	1.5	0.677	0.715
	CMA	26.5	9.4	5.5	0.5	0.651	0.706
	PAN	22.9	9.5	5.9	0.3	0.774	0.755
	Global diversity (all samples)	139.8	17.2	7.1	-	0.704	7.757

*Note.* N: sample size; NA: number of alleles; *Nef*: number of effective alleles; *Npa*: number of private alleles; *Ho* and *He*: observed and expected heterozygosities. The average considers all the locations as a single population. CAA: Conquista Agraria; SBO: San Bruno; LTO: Loreto; ESI: Espiritu Santo Island; GUA: Guaymas; TOP: Topolobampo; ALT: Altata; NAY: Nayarit; CMA: Colima; OAX: Oaxaca; PAN: Panama; COL: Colombia.

#### **TABLE 2** Pair-wise F<sub>ST</sub> from samples comparisons of Lutianus peru with 13 loci

	CAA	SBO	LTO	ESI	GUA	ТОР	NAY	OAX	PAN	COL
CAA	-	-0.000	-0.000	-0.000	0.001	0.001	0.027	0.021	0.023	0.030
SBO	0.694	-	0.002	0.001	0.002	0.006	0.028	0.021	0.020	0.033
LTO	0.734	0.234	-	0.002	0.000	-0.000	0.026	0.022	0.025	0.034
ESI	0.735	0.329	0.230	-	0.004	0.003	0.029	0.021	0.022	0.029
GUA	0.413	0.263	0.578	0.032	-	0.003	0.024	0.017	0.021	0.030
TOP	0.345	0.004	0.636	0.075	0.103	-	0.023	0.023	0.023	0.032
NAY	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	-	0.009	0.012	0.025
OAX	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	-	0.005	0.019
PAN	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	0.063	-	0.005
COL	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	0.080	-

*Note.* Above the dashed diagonal are the  $F_{ST}$  values and below that are the *P* values. The asterisks represent the significant *P* values after the Bonferroni correction (*P* < 0.0044).

\*P < 0.0044.

CAA: Conquista Agraria; SBO, San Bruno; LTO, Loreto; ESI, Espiritu Santo Island; GUA, Guaymas; TOP, Topolobampo; NAY, Nayarit; OAX, Oaxaca; PAN, Panama; COL, Colombia.

The hierarchical AMOVA between the four groups (1 = Conquista Agraria, San Bruno, Loreto, Espiritu Santo Island, Guaymas and Topolobampo; 2 = Nayarit; 3 = Oaxaca and 4 = Panama and Colombia) did show significant differences ( $F_{ST}$  = 0.0225, P = 0) (Supporting Information SUPPORTING INFORMATION SI 5). The analysis of STRUCTURE suggested that the populations of *L. peru* were distributed in four genetic groups. Nonetheless, two well-defined groups were identified, one corresponding to Conquista Agraria and the localities inside of the GC, and the other corresponding to Nayarit, Oaxaca, Panama and Colombia. The most

**TABLE 1**Average genetic diversityfor each population from 13microsatellites of Lutjanus peru and 11microsatellites of Lutjanus argentiventris



**TABLE 3** Pair-wise F<sub>ST</sub> from samples comparisons of Lutjanus
 argentiventris with 11 loci

	SBO	ESI	ALT	СМА	PAN
SBO	-	0.023	0.009	0.006	0.028
ESI	<0.001*	-	0.005	0.019	0.037
ALT	0.015*	0.116	-	0.006	0.025
СМА	0.087	0.001*	0.100	-	0.027
PAN	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*	-

Note. Above the dashed diagonal are the  $F_{ST}$  values and below that are the P values. The asterisks represent the significant P values after the Bonferroni correction (P < 0.015).

\*P < 0.015

SBO: San Bruno; ESI: Espiritu Santo Island; ALT: Altata; CMA: Colima; PAN: Panama.

marked differences were between the locations north of Topolobampo and those south of Nayarit (Supporting Information SUPPORTING INFORMATION SI 6).

The DAPC showed a slightly different result as three groups were observed (membership probabilities in parenthesis). The first group was formed by Conquista Agraria (0.57) and the localities inside the GC [San Bruno (0.84), Loreto (0.73), Espiritu Santo Island (0.7), Guaymas (0.71) and Topolobampo (0.8)]. The second group was Navarit (0.89) and Oaxaca (0.89), and the last group was Panama (0.81) and Colombia (0.87), with Panama showing some shared alleles with Oaxaca (Figure 2a).

For L. argentiventris, the global AMOVA with ( $F_{ST} = 0.017$ , P = 0) and without ( $F_{ST}$  = 0.019, P = 0) the locus with high null alleles frequencies showed the same results. Because the effect of Lupe61 did not show significant differences, the 11 loci were used in all the subsequent analyses. The pair-wise F<sub>ST</sub> ranged from 0.005 to 0.037. The localities inside the GC (San Bruno, Espiritu Santo Island and Altata) also showed genetic structure ( $F_{ST}$  = 0.012, P = 0), except the pair of locations Espiritu Santo Island-Altata (Table 3).

The hierarchical AMOVA between four groups (1 = San Bruno, 2 = Espiritu Santo and Altata, 3 = Colima and 4 = Panama) was also significant ( $F_{ST}$  = 0.019, P = 0) (Supporting Information SUPPORTING **INFORMATION SI 5).** 

The STRUCTURE analysis suggested that the populations of L. argentiventris were distributed in two genetic groups, but all these populations were admixed (Supporting Information

FIGURE 2 Discriminant analysis of principal components for (a) Lutjanus peru and (b) Lutianus argentiventris. CAA: Conquista Agraria; SBO: San Bruno; LTO: Loreto; ESI: Espiritu Santo Island; GUA: Guaymas; TOP: Topolobampo; NAY: Nayarit; CMA: Colima; OAX: Oaxaca; PAN: Panama; COL: Colombia



**FIGURE 3** Mantel test for *Lutjanus peru* (above): (a) all localities and (b) without Panama and Colombia; and *Lutjanus argentiventris* (below): (c) all localities and (d) without Panama

**TABLE 4**Gene flow (average number of migrants between<br/>populations, Nm) based on private alleles for Lutjanus peru and<br/>Lutjanus argentiventris

Species	Location	Nm
	CAA	55
	SBO	52
	LTO	49
	ESI	25
	GUA	39
L. peru	TOP	46
	NAY	43
	OAX	39
	PAN	5
	COL	17
	SBO	24
	ESI	17
L. argentiventris	ALT	17
	СМА	14
	PAN	15

Note. CAA: Conquista Agraria; SBO: San Bruno; LTO: Loreto; ESI: Espiritu Santo Island; GUA: Guaymas; TOP: Topolobampo; NAY: Nayarit; OAX: Oaxaca; PAN: Panama; COL: Colombia; ALT: Altata; CMA: Colima.

SUPPORTING INFORMATION SI 7). Nonetheless, the DAPC showed three groups: the first group made up of Espiritu Santo Island (0.88) and Altata (0.84), the second group made up of Colima (0.92) and San Bruno (0.91), where Colima shared alleles with Altata, and the third group was formed only by Panama (0.78) (Figure 2b).

The Mantel test for *L. peru* indicated isolation by distance in a TEP scale ( $R^2$  = 0.51, *P* = 0.0007) (Figure 3a). Nonetheless, on a scale

with only Mexican locations, the isolation by distance was non-significant ( $R^2 = 0.38$ , P = 1) (Figure 3b). The same occurred for *L. argentiventris*; in a TEP scale, there was isolation by distance ( $R^2 = 0.52$ , P = 0.07) (Figure 3c), but in a Mexico scale, the isolation was non-significant ( $R^2 = 0.01$ , P = 1) (Figure 3d).

Regarding the gene flow based on private alleles, for *L. peru*, the locations in Mexico showed higher number of migrants among locations (Nm = 25-55) than those observed in Panama (Nm = 5) and Colombia (Nm = 17) (Table 4). For *L. argentiventris*, the locations in the GC (San Bruno, Espiritu Santo Island and Altata) showed a higher gene flow (Nm = 17-24) than Colima (Nm = 14) and Panama (Nm = 15).

## 3.3 | Habitat distribution and niche modelling

The distribution of the rocky reef habitat bounded by the isobath of 100 m for *L. peru* was shaped by eight patches. The largest patches were found in the GC, outside the GC on the continental coast, and between the countries of Costa Rica and Panama. These areas were well connected between the reef patches, and the connections were from 100 s to *c.* 1000 km of longitude. In this sense, the most important gaps were located in the central part of Mexico with an extent of 400 km (*e.g.*, between Nayarit and Michoacan). Another one was found between the central part of Mexico (Guerrero) to El Salvador in Central America with an extent of *c.* 1500 km. Minor gaps were also found with an extent of 150–300 km (*e.g.*, between the GC and Nayarit) (Figure 4a).

The soft bottom was distributed in two habitat patches of large area, one from Mexico to northern Costa Rica and the other from Panama to Colombia. Only one gap was detected between southern Costa Rica and northern Panama with an extension of 320 km (Figure 4b).



**FIGURE 4** Links between habitat patches. (a) Rocky reefs and (b) soft bottom bounded to the 100 m isobath for *Lutjanus peru*, and (c) rocky reef and (d) mangroves bounded to the 60 m isobath for *Lutjanus argentiventris*. Each colour represents the connections between patches by a maximum distance of 150 km. SON: Sonora; SIN: Sinaloa; NAY: Nayarit; MIC: Michoacan; GUE: Guerrero; OAX; Oaxaca; ES: El Salvador; NIC: Nicaragua; CR: Costa Rica; PAN: Panama; COL: Colombia

For *L. argentiventris*, the distribution of the rocky reef habitat bounded by the isobath of 60 m was composed of nine patches. The largest patches were observed in the GC, outside of the GC on the mainland coast, and from southern Costa Rica to Panamá. The patches ranged from 100 s to *c.* 1000 km of longitude. The most important gaps were located similar to those of *L. peru*, in the central part of México (*e.g.*, between Nayarit and Michoacan), and from central Mexico (Guerrero) to El Salvador. Some minor gaps were present with an extent of 150–320 km (*e.g.*, in the middle and southern parts of the continental side of the GC, Nicaragua and in the north of Costa Rica) (Figure 4c).

The mangroves did not present gaps throughout their distribution, but in the peninsula and the middle part of the continental side of the GC the mangrove patches were very small, <1 km of longitude (Figure 4d). Regarding the probability of occurrence throughout the distribution range of *L. peru*, the occurrences were well distributed in Mexico although there was a gap of information principally in Central America and Colombia. The main environmental variables that contributed to the analysis were salinity with 26.98%, chlorophyll-*a* 21.33%, phosphates 16.88% and oxygen 15.65%. Five places where the species was most likely to occur were found: two in the GC with a probability of 0.6, between Sinaloa and northern Jalisco with 0.96, between Michoacan and Guerrero 0.74 and from Oaxaca to Guatemala with probability ranging from 0.86 to 0.52 (Figure 5a).

For *L. argentiventris*, the occurrences were well distributed in all the study areas. The environmental variables that best explained these occurrences were silicates with 28.34%, chlorophyll-*a* 15.53%, salinity 14.84%, pH 10.28% and temperature 10.41%. Four places where the



**FIGURE 5** Probability of occurrence for (a) *Lutjanus peru* and (b) *Lutjanus argentiventris*. The colour scale represents the full probability of occurrence for both species and the black dots are the global biodiversity information facility records. SIN: Sinaloa; NAY: Nayarit; JAL: Jalisco; MIC: Michoacan; GUE: Guerrero; OAX: Oaxaca; GUA: Guatemala



**FIGURE 6** Discriminant analysis of ecoregions of *Lutjanus peru* and *Lutjanus argentiventris*. MaT: Magdalena transition; Ctz: Cortezian; MTP: Mexican tropical Pacific; Ch-Ni: Chiapas–Nicaragua; Nya: Nicoya; PaB: Panama bright; DOC: dissolved oxygen concentration; Chl: chlorophyll-a. The dots represent outliers

species was most likely to occur were found: two in the GC with probabilities ranging from 0.72 to 0.79, one in Nayarit to Michoacan with a probability of 0.54 and in Oaxaca to Guatemala with 0.9 (Figure 5b).

The discriminant analysis showed that the ecoregions of the Magdalena transition, Cortezian, Mexican tropical Pacific, Chiapas-Nicaragua, Nicoya and Panama Bight had significant environmental differences between them. The first canonical analysis explained 78.12% of the variance and the second 16.84%. Together, they explained 94.96% of the variance. The principal oceanographic variables that explained the differences between the ecoregions were as follows: pH, chlorophyll-*a*, temperature, salinity and phosphates (Figure 6).

## 4 | DISCUSSION

The analyses of this study identified the presence of significant genetic structure in *L. peru* and *L. argentiventris* along the TEP. Despite the two species belonging to the same genus, displaying a similar geographic distribution, the co-occurrence of adult populations at rocky reefs and both showing ontogenetic habitat shifts during their life cycle, the location of the identified barriers to gene flow differed between them. The drivers for the genetic structure were relevant at different geographical scales. Although isolation by distance was evident at larger scales (>2500 km), at local scales (<250 km) the

discontinuities in the distinct habitats used by juveniles and adults of each species, the different environmental gradients and the oceanographic conditions were the most important drivers for the genetic structure in the GC and the TEP. Different drivers may be acting in combination at different geographic scales all at the same time, making the genetic patterns that were found difficult to explain if the spatial scales were ignored in the analysis.

## 4.1 | Genetic structure at large scales

On a large scale (>2500 km), isolation by distance prevented gene flow, where nearby populations exchanged more migrants, similar to previous reports (Dalongeville *et al.* 2018).

Contrary to this study, Hernández-Álvarez *et al.* (2020) did not find genetic differences in *L. peru*, along the TEP coasts. The differences could be explained because they used mtDNA, whereas the authors of this study used microsatellites, markers that have higher mutation rates than the mtDNA, which have the potential to provide contemporary estimates of migration and the power to distinguish relatively high rates of gene flow from panmixia (Selkoe and Toonen, 2006). The authors observed that the STRUCTURE clustering method was unable to solve some fine-scale population structures (Eble *et al.*, 2011), and it detected only the uppermost hierarchical levels (Evanno *et al.* 2005) compared to DAPC.

Although the genetic brake found between central Mexico (Colima-Oaxaca) and Central America (Panama) could be an artefact of the sampling design, the same break has been observed previously and has been attributed to isolation by distance, lack of suitable habitat and environmental differences, principally temperature and salinity (García-De León et al., 2018; Pliego-Cardenas et al., 2020; Rodríguez-Zárate et al., 2018; Sandoval-Huerta et al., 2019). For both species, the genetic break can be explained by the habitat discontinuities for juveniles (soft bottoms for L. peru) and adults (rocky reef for both species), which agrees with the previously identified Central American Gap (Craig et al., 2006; Hastings, 2000). In addition, the authors observed low probability of occurrence around the gap for L. argentiventris and strong differences in temperature, salinity, pH and chlorophyll-a between the Mexican Tropical Pacific and Panama Bight. The TEP is well known for the strong upwelling system present at the Tehuantepec isthmus (Kessler, 2006), which can be stressful to larvae and adult fishes (Sandoval-Huerta et al., 2019). The habitat gap and contrasting oceanographic conditions in this area also limit gene flow in other species, including the reef-associated Elacatinus puncticulatus (Ginsburg, 1938) (Gobiidae) (Sandoval-Huerta et al., 2019).

Barriers to gene flow imposed by strong selection and local adaptation between populations could also be detectable in neutral markers (Kirk and Freeland, 2011; Sexton *et al.*, 2013). Examples include strong environmental gradients in the structure of Pacific hake (*Merluccius productus* Ayres, 1855) estimated with microsatellites (García-De León *et al.*, 2018), and environmental differences or high selective pressure pre- or post-settlement in the structure of *Thaleichthys pacificus* (Richardson, 1836), and lobsters *Homarus*  americanus and Sagmariasus verreauxi detected with neutral SNP data sets (Benestan et al., 2016; Candy et al., 2015; Woodings et al., 2018).

## 4.2 | Genetic structure at local scales

In line with many other previous studies, the authors of this study confirmed that habitat discontinuities can prevent gene flow between populations at small spatial scales (<250 km) (Blanco-Gonzalez *et al.*, 2016; Johansson *et al.*, 2008; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Schunter *et al.*, 2019; Torquato *et al.*, 2019).

The most important barrier to gene flow in L. peru was found between the GC and Nayarit (Figure 4a), where a gap of suitable rocky reef habitat was found which has been previously identified as the Sinaloan gap (Craig et al., 2006; Hastings, 2000). Other species including Tripterygion delaisi (Cadenat & Blache, 1970) (Tripterygiidae) show a genetic brake related to this kind of habitat gap (Schunter et al., 2019). Other potential factors include environmental differences between the Cortezian and Mexican Tropical Pacific ecoregions and mesoscale eddies and the upwelling zone at the mouth of the GC, where the California Current, the Mexican Coastal Current and the GC Current converge (Sandoval-Huerta et al., 2019: Zamudio et al., 2008). Interestingly, the Sinaloan gap had no effect on the genetic structure of L. argentiventris, which could be explained by the connectivity of juveniles because of the continuity of the mangrove habitat along this coast. The barrier found for L. peru between Navarit and Oaxaca could also be explained by the discontinuities of rocky habitat (>150 km). Lutianus peru does not exhibit extensive migrations (Rocha-Olivares and Sandoval-Castillo, 2003), and its adult home range has been estimated to be between 5 and 10 km (Green et al., 2015; Munguía-Vega et al. 2018b). The authors found genetic structure inside the GC for L. argentiventris, between San Bruno and Espiritu Santo Island, in contrast to L. peru where they observed genetic homogeneity. The genetic structure in L. argentiventris could be explained by the small number and size (<1 km) of mangrove patches in the western coast of the GC for the recruitment of juveniles (Munguia-Vega et al., 2018a).

Besides the gaps in habitat, other studies have found that at scales <1000 km the larval dispersal and recruitment were the main processes affecting genetic structure (Berkström *et al.*, 2020; Dalongeville *et al.*, 2018; Pascual *et al.*, 2017; Schunter *et al.*, 2019). The general lack of genetic structure in the GC could be related to seasonally reversing surface currents and mesoscale eddies (Lavín and Marinone, 2003) that transport fish larvae, creating different patterns of metapopulation structure that tend to homogenize allele frequencies (Beldade *et al.*, 2014; Cisneros-Mata *et al.*, 2018; Lodeiros *et al.*, 2016; Munguia-Vega *et al.*, 2014, 2018a; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020; Soria *et al.*, 2012). However, swimming behaviour, different settlement success and topography, like the narrow continental shelf or very steep slopes, could also contribute to genetic differences (Sefc *et al.*, 2020).

Larval dispersal *via* a cyclonic eddy between Panama and Colombia could also explain the genetic homogeneity found within the Panama Bight ecoregion in *L. peru*. The velocity of the current in this eddy is *c*. 30 cm s<sup>-1</sup>, which would imply that *L. peru* larvae could arrive from the northern part of Colombia to Panama in *c*. 10 days (Chaigneau *et al.*, 2006; Peña *et al.*, 2017). For *L. argentiventris*, larval dispersal in a stepping stone fashion *via* the Mexican coastal current could help explain the lack of structure between Colima, San Bruno and Altata. This current, during spring and autumn, reaches seasonal-average velocities for *c*. 10 cm s<sup>-1</sup> and is extended from the Tehuantepec Gulf to Mazatlan, Sinaloa (Gómez-Valdivia *et al.*, 2015).

Future analysis with SNP loci distributed in coding and noncoding regions of the genome will be necessary to have a better understanding of how the structure of the populations could be influenced by the environmental variables through the ecoregions. On the contrary, because the larval dispersal is an important driver for gene flow, the use of oceanographic models could help in elucidating patterns of genetic structure.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Diana Cecilia Escobedo Urías from CIDIIR-Guasave for providing housing and transportation during our stay in Sinaloa, and Vicente Hernández C. (CRIP Mazatlán), Oswaldo Morales-Pacheco (CRIP Salina Cruz), Deivis Samuel Palacios-Salgado, Marco Antonio Porchas-Cornejo, Armando Hernández López, Elias Montaño, A.M. Millán (Universidad del Valle, Colombia) and J.A. Clarós (Universidad Marítima Internacional de Panamá, Panama) for the facilitation of the samples. Also, we are grateful to the fishermen and the fishing cooperatives: Horacio Fierro, San Carlos, La Salina and Mariscos Baja Sur, for providing support during sampling.

### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Study design: R.-R.N., D.-V.N., M.-V.A. and P.-E.R.; preparation of the manuscript: R.-R.N.; funding: D.-V.N.; acquisition of the samples: D.-V.N., P.-E.R. and E.-B.E.; laboratory analysis and data interpretation: R.-R.N. and M.-V.A. All the authors contributed in drafting the manuscript and to the scientific discussion, and reviewed and approved the manuscript.

### ORCID

Noé Díaz-Viloria D https://orcid.org/0000-0001-8964-4184

### REFERENCES

- Aburto-Oropeza, O., Dominguez-Guerrero, I., Cota-Nieto, J., & Plomozo-Lugo, T. (2009). Recruitment and ontogenetic habitat shifts of the yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) in the Gulf of California. *Marine Biology*, 156, 2461–2472.
- Amos, W., Hoffman, J. I., Frodsham, A., Zhang, L., Best, S., & Hill, A. V. S. (2007). Automated binning of microsatellite alleles: problems and solutions. *Molecular Ecology Notes*, 7(1), 10–14.
- Assis, J., Tyberghein, L., Bosch, S., Verbruggen, H., Serrão, E. A., & De Clerck, O. (2018). Bio-ORACLE v2.0: extending marine data layers for bioclimatic modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 27(3), 277–284.
- Bastian, M., Heymann, S., & Jacomy, M. (2009). Gephi: An open source software for exploring and manipulating networks. In *International* AAAI conference on weblogs and social media. San Jose, California: AAAI Press.

- Beldade, R., Jackson, A. M., Cudney-Bueno, R., Raimondi, P. T., & Bernardi, G. (2014). Genetic structure among spawning aggregations of the gulf coney *Hyporthodus acanthistius*. *Marine Ecology Progress Series*, 499, 193–201.
- Benestan, L., Quinn, B. K., Maaroufi, H., Laporte, M., Clark, F. K., Greenwood, S. J., ... Bernatchez, L. (2016). Seascape genomics provides evidence for thermal adaptation and current-mediated population structure in American lobster (*Homarus americanus*). *Molecular Ecology*, 25(20), 5073–5092.
- Berkström, C., Eggertsen, L., Goodell, W., Cordeiro, C. A. M. M., Lucena, M. B., Gustafsson, R., ... Ferreira, C. E. L. (2020). Thresholds in seascape connectivity: the spatial arrangement of nursery habitats structure fish communities on nearby reefs. *Ecography*, 43, 1–15.
- Berkström, C., Gullström, M., Lindborg, R., Mwandya, A. W., Yahya, S. A. S., Kautsky, N., & Nyström, M. (2012). Exploring 'knowns' and 'unknowns' in tropical seascape connectivity with insights from east African coral reefs. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 107, 1–21.
- Blanco-Gonzalez, E., Knutsen, H., & Jorde, P. E. (2016). Habitat discontinuities separate genetically divergent populations of a rocky shore marine fishes. *PLoS One*, 11(10), e0163052.
- Candy, J. R., Campbell, N. R., Grinnell, M. H., Beacham, T. D., Larson, W. A., & Narum, S. R. (2015). Population differentiation determined from putative neutral and divergent adaptive genetic markers in eulachon (*Thaleichthys pacificus*, Osmeridae), an andadromous Pacific smelt. *Molecular Ecology Resources*, 15, 1421–1434.
- Chaigneau, A., Abarca del Rio, R., & Colas, F. (2006). Lagrangian study of the Panama bight and surrounding regions. *Journal of Geophysical Research*, 111, 1–20.
- Cisneros-Mata, M. A., Munguía-Vega, A., Rodríguez-Félix, D., Aragón-Noriega, E. A., Grijalva-Chon, J. M., Arreola-lizárraga, J. A., & Hurtado, L. A. (2018). Genetic diversity and metapopulation structure of the brown swimming crab (*Callinectes bellicosus*) along the coast of Sonora, Mexico: implications for fisheries management. *Fisheries Research*, 212, 97–106.
- Claro, R., & Lindeman, K. C. (2008). Biología y manejo de los pargos (Lutjanidae) en el Atlántico occidental Instituto de oceanología (p. 472). La Habana, Cuba: CITMA.
- Cowen, R. K., Gawarkiewicz, G., Pineda, J., Thorrold, S. R., & Werner, F. E. (2007). Population connectivity in marine systems. *Oceanography*, 20 (3), 14–21.
- Craig, M. T., Hastings, P. A., Pondella, D. J., Robertson, R. D., & Rosales-Casián, J. A. (2006). Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): implications for the biogeography of the tropical eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *Journal of Biogeography*, 33, 969–979.
- Dalongeville, A., Andrello, M., Mouillot, D., Lobreaux, S., Fortin, M. J., Lasram, F., ... Manel, S. (2018). Geographic isolation and larval dispersal shape seascape genetic patterns differently according to spatial scale. *Evolutionary Applications*, 11(8), 1437–1447.
- Eble, J. A., Toonen, R. J., Sorenson, L., Basch, L. V., Papastamatiou, Y. P., & Bowen, B. W. (2011). Escaping paradise: larval export from Hawaii in an indo-pacific reef fish, the yellow tang *Zebrasoma flavescens*. *Marine Ecology Progress Series*, 428, 245–258.
- Erisman, B., Mascarenas, I., Paredes, G., Sadovy de Mitcheson, Y., Aburto-Oropeza, O., & Hastings, P. (2010). Seasonal, annual, and long-term trends in commercial fisheries for aggregating reef fishes in the Gulf of California, Mexico. *Fisheries Research*, 106(3), 279–288.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611–2620.
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47–50.
- Fischer, M. C., Rellstab, C., Leuzinger, M., Roumet, M., Gugerli, F., Shimizu, K. K., ... Widmer, A. (2017). Estimating genomic diversity

and population differentiation - an empirical comparison of microsatellite and SNP variation in Arabidopsis halleri. *BMC Genomics*, 18 (69), 1–15.

- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K. E., & Niem, V. H. (1995). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen III. Vertebrados -Parte 2. Roma.
- Frisk, M. G., Jordaan, A., & Miller, T. J. (2012). Moving beyond the current paradigm in marine population connectivity: are adults the missing link? Fish and Fisheries, 15(2), 242–254.
- Gallardo-Cabello, M., Sarabia-Méndez, M., Espino-Barr, E., & Anislado-Tolentino, V. (2010). Biological aspects of *Lutjanus Peru* in Bufadero Bay, Michoacán, México: growth, reproduction and condition factors. *Revista de Biologia Marina y Oceanografía*, 45(2), 205–215.
- García-De León, F. J., Galván-Tirado, C., Velasco, L. S., Silva-Segundo, C. A., Hernández-Guzmán, R., Barriga-Sosa, I. d. I. A., ... Cruz-Hernández, P. (2018). Role of oceanography in shaping the genetic structure in the North Pacific hake *Merluccius productus*. *PLoS One*, 13 (3), e0194646.
- García-Roselló, E., Guisande, C., González-Dacosta, J., Heine, J., Pelayo-Villamil, P., Manjarrás-Hernández, A., ... Granado-Lorencio, C. (2013). ModestR: a software tool for managing and analyzing species distribution map databases. *Ecography*, 36(11), 1202–1207.
- García-Roselló, E., Guisande, C., Heine, J., Pelayo-Villamil, P., Manjarrés-Hernández, A., González Vilas, L., ... Granado-Lorencio, C. (2014). Using MODESTR to download, import and clean species distribution records. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(7), 708–713.
- Gold, J. R., Willis, S. C., Renshaw, M. A., Buentello, A., Walker, H. J., Puritz, J. B., ... Voelker, G. (2015). Phylogenetic relationships of tropical eastern Pacific snappers (Lutjanidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. Systematics and Biodiversity, 13(6), 916–927.
- Gómez-Valdivia, F., Parés-Sierra, A., & Flores-Morales, A. L. (2015). The Mexican coastal current: a subsurface seasonal bridge that connects the tropical and subtropical northeastern Pacific. *Continental Shelf Research*, 110, 100–107.
- Goudet, J. (1995). FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate Fstatistics. *Journal of Heredity*, 86, 485–486.
- Green, A. L., Maypa, A. P., Almany, G. R., Rhodes, K. L., Weeks, R., Abesamis, R. A., ... White, A. T. (2015). Larval dispersal and movement patterns of coral reef fishes, and implications for marine reserve network design. *Biological Reviews*, 90(4), 1215–1247.
- Halpern, B. S., Frazier, M., Afflerbach, J., Lowndes, J. S., Micheli, F., O'Hara, C., ... Selkoe, K. A. (2019). Recent pace of change in human impact on the world's ocean. *Scientific Reports*, *9*, 11609.
- Hastings, P. (2000). Biogeography of the tropical eastern Pacific: distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 128, 319–335.
- Hellberg, M. E., Burton, R. S., Neigel, J. E., & Palumbi, S. R. (2002). Genetic assessment of connectivity among marine populations. *Bulletin of Marine Science*, 70(1), 273–290.
- Hernández-Álvarez, C., Bayona-Vásquez, N. J., Domínguez-Domínguez, O., Uribe-Alcocer, M., & Díaz-Jaimes, P. (2020). Phylogeography of the Pacific red snapper (*Lutjanus Peru*) and spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) in the inshore tropical eastern Pacific. *Copeia*, 108(1), 61.
- Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9(5), 1322–1332.
- Johansson, M. L., Banks, M. A., Glunt, K. D., Hassel-Finnegan, H. M., & Buonaccorsi, V. P. (2008). Influence of habitat discontinuity, geographical distance, and oceanography on fine-scale population genetic structure of copper rockfish (Sebastes caurinus). Molecular Ecology, 17, 3051–3061.
- Johnson, D. R., & Perry, H. M. (2020). Red snapper, Lutjanus campechanus, larval dispersal in the Gulf of Mexico. In Red snapper biology in a changing world (p. 290). Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group.

- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genetics, 11(94), 15.
- Jombart, T. (2008). Adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403–1405.
- Kennington, W. J., Keron, P. W., Harvey, E. S., Wakefield, C. B., Williams, A. J., Halafihi, T., & Newman, S. J. (2017). High intra-ocean, but limited inter-ocean genetic connectivity in populations of the deep-water oblique-banded snapper *Pristipomoides zonatus* (Pisces: Lutjanidae). *Fisheries Research*, 193, 242–249.
- Kessler, W. S. (2006). The circulation of the eastern tropical Pacific: a review. Progress in Oceanography, 69, 181–217.
- Kirk, H., & Freeland, J. R. (2011). Applications and implications of neutral versus non-neutral markers in molecular ecology. *International Journal* of *Molecular Sciences*, 12, 3966–3988.
- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., & Mayrose, I. (2015). CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5), 1179–1191.
- Kough, A. S., Claro, R., Lindeman, K. C., & Paris, C. B. (2016). Decadal analysis of larval connectivity from Cuban snapper (Lutjanidae) spawning aggregations based on biophysical modeling. *Marine Ecology Progress Series*, 550, 175–190.
- Lavín, M. F., & Marinone, S. G. (2003). An overview of the physical oceanography of the Gulf of California. In O. U. Velasco Fuentes, J. Sheinbaum & J. L. Ochoa de la Torre (eds.). Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics, 173–204). Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. ISBN 1- 4020-1589-5.
- Liu, N., Chen, L., Wang, S., Oh, C., & Zhao, H. (2005). Comparison of single-nucleotide polymorphisms and microsatellites in inference of population structure. *BMC Genetics*, 6, 1–5.
- Lodeiros, C., Soria, G., Valentich-Scott, P., Munguía-Vega, A., Cabrera, J. S., Cudney-Bueno, R., ... Sonnenholzner, S. (2016). Spondylids of eastern Pacific Ocean. *Journal of Shellfish Research*, 35(2), 279–293.
- Lopera-Barrero, N. M., Povh, J. A., Ribeiro, R. P., Gomes, P. C., Jacometo, C. B., & da Silva Lopes, T. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(1), 77–86.
- Lucano-Ramírez, G., Ruiz-Ramírez, S., González-Sansón, G., & Ceballos-Vázquez, B. P. (2014). Reproductive biology of the yellow snapper, *Lutjanus argentiventris* (Pisces, Lutjanidae), from the Mexican Central Pacific. *Ciencias Marinas*, 40(1), 33–44.
- Munguia-Vega, A., Green, A. L., Suarez-Castillo, A. N., Espinosa-Romero, M. J., Aburto-Oropeza, O., Cisneros-Montemayor, A. M., ... Hudson-Weaver, A. (2018b). Ecological guidelines for designing networks of marine reserves in the unique biophysical environment of the Gulf of California. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 28, 749–776.
- Munguia-Vega, A., Jackson, A., Marinone, S. G., Erisman, B., Moreno-Baez, M., Girón-Nava, A., ... Torre, J. (2014). Asymmetric connectivity of spawning aggregations of a commercially important marine fish using a multidisciplinary approach. *PeerJ*, 2, 511.
- Munguía-Vega, A., Klimova, A., & Culver, M. (2013). New microsatellites loci isolated via next-generation sequencing for two endangered pronghorn from the Sonoran Desert. *Conservation Genetics Resources*, 53(9), 1689–1699.
- Munguia-Vega, A., Marinone, S. G., Paz-Garcia, D. A., Giron-Nava, A., Plomozo-Lugo, T., Gonzalez-Cuellar, O., ... Reyes-Bonilla, H. (2018a). Anisotropic larval connectivity and metapopulation structure driven by directional oceanic currents in a marine fish targeted by small-scale fisheries. *Marine Biology*, 165, 16.
- Pascual, M., Rives, B., Schunter, C., & Macpherson, E. (2017). Impact of life history traits on gene flow: a multispecies systematic review across oceanographic barriers in the Mediterranean Sea. *PLoS One*, 12 (5), 1–20.

- Pascual-Hortal, L., & Saura, S. (2006). Comparison and development of new graph-based landscape connectivity indices: towards the priorization of habitat patches and corridors for conservation. *Land-scape Ecology*, 21, 959–967.
- Paz-García, D. A., Munguía-Vega, A., Plomozo-Lugo, T., & Hudson-Weaver, A. (2016). Characterization of 32 microsatellite loci for the Pacific red snapper *Lutjanus Peru* through next generation sequencing. *Molecular Biology Reports*, 44(2), 251–256.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenALEx 6.5: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bio-informatics*, 28(19), 2537–2539.
- Peña, R., Dumas, S., & Contreras-Olguín, M. (2017). Organogenesis of the digestive system in Pacific red snapper (*Lutjanus Peru*) larvae. *Aquaculture Research*, 48(4), 1561–1575.
- Perez-Enriquez, R., & Taniguchi, N. (1999). Genetic structure of red sea bream (*Pagrus major*) population off Japan and the southwest pacific, using microsatellite DNA markers. *Fisheries Science*, 65(1), 23–30.
- Perez-Enriquez, R., Valadez-Rodríguez, J. A., Max-Aguilar, A., Dumas, S., & Diaz-Viloria, N. (2020). Parental contribution in a cultivated stock for the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) estimated by newly developed microsatellite markers. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 48(2), 247–256.
- Piñón, A., Amezcua, F., & Duncan, N. (2009). Reproductive cycle of female yellow snapper *Lutjanus argentiventris* (Pisces, Actinopterygii, Lutjanidae) in the SW gulf of California: gonadic stages, spawning seasonality and length at sexual maturity. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(1), 18–25.
- Pliego-Cardenas, R., Prieto, S. M., Apon, M. A., Markaida, U., & Barriga-Sosa, I. D. L. A. (2020). Genetic structure of Octopus mimus Gould, 1852 along three biogeographic marine provinces. *Marine Biodiversity*, 50(46). https://doi.org/10.1007/s12526-020-01078-4.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Genetics*, 155, 945–959.
- Raymond, M., & Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity*, 3(86), 248–249.
- Reguera-Rouzaud, N., Díaz-Viloria, N., Sánchez-Velasco, L., Flores-Morales, A. L., Parés-Sierra, A., Aburto-Oropeza, O., & Munguía-Vega, A. (2020). Yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) connectivity in the southern gulf of California. *Marine Biodiversity*, 50(54), 1–14.
- Reis-Santos, P., Tanner, S. E., Aboim, M. A., Vasconcelos, R. P., Laroche, J., Charrier, G., ... Cabral, H. N. (2018). Reconciling differences in natural tags to infer demographic and genetic connectivity in marine fish populations. *Scientific Reports*, 8, 10343.
- Rice, W. E. R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43, 223–225.
- Riginos, C., & Liggins, L. (2013). Seascape genetics: populations, individuals, and genes marooned and adrift. *Geography Compass*, 7(3), 197–216.
- Rocha-Olivares, A. (1998). Age, growth, mortality, and population characteristics of the Pacific red snapper, *Lutjanus Peru*, off the southeast coast of Baja California, Mexico. *Fishery Bulletin*, 96(3), 562–574.
- Rocha-Olivares, A., & Sandoval-Castillo, J. (2003). Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the Pacific red snapper Lutjanus Peru. Ciencias Marinas, 29(2), 197–209.
- Rodríguez-Zárate, C. J., Sandoval-Castillo, J., van Sebille, E., Keane, R. G., Rocha-Olivares, A., Urteaga, J., & Beheregaray, L. B. (2018). Isolation by environment in the highly mobile olive ridley turtle (*Lepidochelys oli*vacea) in the eastern pacific. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 285, 20180264.
- Rojas, P. A., Gutiérrez, C. F., Puentes, V., Villa, A. A., & Rubio, E. A. (2004). Aspectos de la biología y dinámica poblacional del pargo coliamarillo *Lutjanus argentiventris* en el Parque Nacional Natural Gorgona, Colombia. Investigaciones Marinas, 32(2), 23–36.

- Ryman, N., & Palm, S. (2006). POWSIM: a computer program for assessing statistical power when testing for genetic differentiation. *Molecular Ecology*, 6, 600–602.
- Sandoval-Huerta, E. R., Beltrán-López, R. G., Pedraza-Marrón, C. R., Paz-Velásquez, M. A., Angulo, A., Robertson, D. R., ... Domínguez-Domínguez, O. (2019). The evolutionary history of the goby *Elacatinus puncticulatus* in the tropical eastern pacific: effects of habitat discontinuities and local environmental variability. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 130, 269–285.
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, *18*(2), 233–234.
- Schunter, C., Pascual, M., Raventos, N., Garriga, J., Garza, J. C., Bartumeus, F., & Macpherson, E. (2019). Seascape genetics at its finest: dispersal patchiness within a well-connected population. *BioRxiv*, 1–27. https://doi.org/10.1101/530451.
- Sefc, K. M., Wagner, M., Zangl, L., Weiß, S., Steinwender, B., Arminger, P., ... Koblmüller, S. (2020). Phylogeographic structure and population connectivity of a small benthic fish (*Tripterygion tripteronotum*) in the Adriatic Sea. *Journal of Biogeography*, 47, 2502–2517.
- Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9(5), 615–629.
- Sexton, J. P., Hangartner, S. B., & Hoffmann, A. A. (2013). Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common? *Evolution*, 68(1), 1–15.
- Slatkin, M. (1985). Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, *39*(1), 53–65.
- Soria, G., Munguía-Vega, A., Marinone, S. G., Moreno-Báez, M., Martínez-Tovar, I., & Cudney-Bueno, R. (2012). Linking bio-oceanography and population genetics to assess larval connectivity. *Marine Ecology Pro*gress Series, 463, 159–175.
- Spalding, M. D., Fox, H. E., Allen, G. R., Davidson, N., Ferdaña, Z. A., Finlayson, M., ... Robertson, J. (2007). Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *Bioscience*, 57(7), 573–583.
- Tinhan, T., Erisman, B., Aburto-Oropeza, O., Weaver, A., Vázquez-Arce, D., & Lowe, C. G. (2014). Residency and seasonal movements in *Lutjanus argentiventris* and *Mycteroperca rosacea* at Los Islotes reserve, gulf of California. *Marine Ecology Progress Series*, 501, 191–206.
- Torquato, F., Range, P., Ben-Hamadou, R., Sigsgaard, E. E., Thomsen, P. F., Riera, R., ... Møller, P. R. (2019). Consequences of marine barriers for genetic diversity of the coral-specialist yellowbar angelfish from the northwestern Indian Ocean. *Ecology and Evolution*, 9(19), 11215–11226.
- Trejos-Castillo, N., Vega, A., Smith, O., & Morán, M. (2007). Diagnóstico del estado actual de los manglares, su manejo y relación con la pesquería en Panamá. Informe técnico final, Panamá, Panamá: Centro de agua del trópico húmedo para América Latina y el Caribe.
- Treml, E. A., Halpin, P. N., Urban, D. L., & Pratson, L. F. (2008). Modeling population connectivity by ocean currents, a graph-theoretic approach for marine conservation. *Landscape Ecology*, 23, 19–36.
- Treml, E. A., Roberts, J. J., Chao, Y., Halpin, P. N., Possingham, H. P., & Riginos, C. (2012). Reproductive output and duration of the pelagic larval stage determine seascape-wide connectivity of marine populations. *Integrative and Comparative Biology*, *52*(4), 525–537.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535–538.
- Vega, A. J., Maté, J. L., & Robles, Y. A. (2016). First report of reproductive aggregations for Pacific Red snappers *Lutjanus peru* (Nicholson and Murphy, 1992) and spotted rose snapper *L. guttatus* (Steindachner, 1869) in the Coiba National Park, Pacific of Panama. 68th. Gulf and Caribbean Fisheries Institute, 112–117.

NAL OF

# FISH BIOLOGY

- Weeks, R. (2017). Incorporating seascape connectivity in conservation prioritisation. *PLoS One*, *12*(7), e0182396.
- Weir, B. S., & Cockerham, C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population. *Evolution*, 38(6), 1358–1370.
- Woodings, L. N., Murphy, N. P., Doyle, S. R., Hall, N. E., Robinson, A. J., Liggins, G. W., ... Strugnell, J. M. (2018). Outlier SNPs detect weak regional structure against a background of genetic homogeneity in the eastern rock lobster, *Sagmariasus verreauxi*. *Marine Biology*, 165(185). https://doi.org/10.1007/s00227-018-3443-7.
- Zamudio, L., Hogan, P., & Metzger, E. J. (2008). Summer generation of the southern gulf of California eddy train. *Journal of Geophysical Research*, 113, C06020.
- Zapata, F. A., & Herrón, P. A. (2002). Pelagic larval duration and geographic distribution of tropical eastern Pacific snappers (Pisces: Lutjanidae). *Marine Ecology Progress Series*, 230, 295–300.
- Zárate-Becerra, M. E., Espino-Barr, E., Puente-Gómez, M., Garcia-Boa, A., Cabral-Solís, E. G., Hernández-Montaño, D., ... Labastida-Che, A. (2014). Huachinango del Pacífico Centro-Sur, costa de Nayarit a

Chiapas. In Sustentabilidad y pesca responsable en México. Evaluación y Manejo (1ra ed.). México, DF: Ediciones de la noche.

#### SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Reguera-Rouzaud N, Díaz-Viloria N, Pérez-Enríquez R, Espino-Barr E, Rivera-Lucero MI, Munguía-Vega A. Drivers for genetic structure at different geographic scales for Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) and yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) in the tropical eastern Pacific. *J Fish Biol.* 2021;98:1267–1280. <u>https://doi.org/10.1111/jfb.</u>

14656