

Caracterización genómica de las
poblaciones del mahi-mahi
Coryphaena hippurus, en el Pacífico
Oriental: sentando las bases para el
diseño de estrategias de
administración



Píndaro Díaz-Jaimes ICMYL-UNAM
Sofía Ortega-García CICIMAR-IPN

PARTICIPANTES

UNAM:

**PINDARO DÍAZ JAIMES
ADAN FERNANDO MAR SILVA
MARIED OCHOA ZAVALA**

CICIMAR

**SOFIA ORTEGA GARCIA
ULIANOV JAKES COTA**

IMARPE

**GIOVANNA SOTIL
ANA ALEGRE
PAUL GUARNIZO
JOSÉ PUCHULÁN
FELIPE PAIVA
AMADO CHE**

IPIAP-ECUADOR

ESTEBAN ELIAS

INCOPECA-COSTA RICA

JOSE MIGUEL CARVAJAL





COREMAHI
COSTA RICA • ECUADOR • PERÚ

CONTENIDO

I.- INTRODUCCIÓN

II.- OBJETIVO

III.- MATERIALES Y MÉTODOS

IV.- RESULTADOS

V.- CONCLUSIONES

VI.- REFERENCIAS

Anexo I

Anexo II

Anexo III

Anexo IV

Anexo V

Anexo VI



INSTITUTO PÚBLICO
DE INVESTIGACIÓN DE
ACUICULTURA Y PESCA



ECUADOR



Instituto Costarricense
de Pesca y Acuicultura

I. INTRODUCCIÓN

El dorado (*Coryphaena hippurus*, Linnaeus, 1758) es un depredador epipelágico altamente migratorio, que tiene una distribución cosmopolita en los océanos del mundo, en aguas tropicales y subtropicales en temperaturas superiores a los 19 °C (Palko *et al.*, 1982; Farrell *et al.*, 2014). Se le conoce como dorado en la mayoría de los países latinoamericanos, pero también se le llama doradilla, lampuga, palometa y perico; en inglés también se conoce como dolphinfish o mahi-mahi (Aires-Da Silva *et al.*, 2014). Esta especie se caracteriza por tener un crecimiento acelerado de hasta 4 mm diarios, con una madurez temprana, la cual alcanza dentro del primer año de vida y un ciclo de vida corto de aproximadamente dos años (Oxenford, 1999) lo que lo hace un recurso con gran potencial de ser explotado mediante pesquerías.

Presenta una alta capacidad migratoria, de la cual algunos autores estiman movimientos latitudinales de más de 1900 km con velocidades de hasta 40km/día que pueden estar asociados al movimiento de objetos a la deriva o una migración pre-desove principalmente de las hembras hacia aguas costeras. Sin embargo, al parecer la especie presenta cierta preferencia y/o fidelidad a sitios de agregación y/o alimentación ya que en estudios de marcado el mayor porcentaje de las recapturas se ha realizado en el punto donde fueron liberados, incluso después de 360 días de su marcaje (Beardsley, 1967; Palko *et al.*, 1982; Kingsford & Defries, 1999; Farrell, 2014; Merten *et al.*, 2014a, Merten *et al.*, 2014b). Particularmente para el Pacífico oriental, estudios de marcado también han revelado diferencias regionales en la utilización del hábitat térmico (Perle *et al.*, 2021).

En el Océano Pacífico Oriental (OPO), aunque 11 países tienen acceso a este recurso, no existe un plan de manejo regional integrado para el dorado, debido a la gran incertidumbre sobre el estado de la especie como recurso

pesquero. A pesar de la importancia de la pesquería del dorado por varias partes interesadas en el OPO, existe una gran incertidumbre sobre el estado de la especie como recurso pesquero comercial, recreativo y artesanal, los movimientos de la especie a escala local, regional e internacional, así como las mejores prácticas de gestión en cada una de estas escalas. El conocimiento científico de si existe una o varias poblaciones o subpoblaciones (“stocks” o unidades de pesca) es de vital importancia para que los países involucrados puedan establecer un manejo sostenible del recurso.

La Administración de pesquerías determina **Unidades de Pesca** para determinar el rendimiento de una población y hacer proyecciones de abundancia más apegadas a la situación del recurso. Estas unidades se determinan con base en morfología, capturas y áreas de reproducción o por métodos genéticos para delimitarlas. La diversidad morfológica y los caracteres demográficos usualmente tienen una base genética pero también una fuerte influencia ambiental por lo que este tipo de caracteres no siempre son útiles para determinar unidades de administración.

La homogeneidad genética entre poblaciones ampliamente distribuidas como es la del dorado, se ha atribuido a la libertad de flujo genético que ofrece un ambiente en apariencia carente de barreras físicas y/o geográficas. Lo anterior propicia la mezcla de huevos, larvas y adultos en diferentes escalas de tiempo y espacio incluso entre cuencas oceánicas. Además se encuentran otros agentes intrínsecos de la historia de vida de las especies, como altas tasas de migración (Grant & Bowen, 1998), poblaciones de gran tamaño que por lo general la presentan las especies pelágicas (Ely *et al.*, 2005) y que disminuyen el efecto de la deriva génica sobre las poblaciones.

Sin embargo, una capacidad de dispersión alta y la ausencia de barreras físicas al flujo génico no necesariamente se traducen en un apareamiento aleatorio (panmixia); ya que existen factores físicos como la distancia geográfica, las corrientes y los frentes oceánicos, entre otras, que limitan el libre flujo de

genes, representando fuerzas que promueven el aislamiento de las poblaciones (Bayona-Vásquez, 2015). Así mismo, otras características ecológicas tales como la presencia de áreas de desove y la fidelidad a las mismas (filopatría), así como selección adaptativa, han resultado en niveles de divergencia significativos, tal como ha sido documentado en especies como los atunes distribuidos en regiones templadas (Chow & Ushiyama, 1995; Alvarado-Bremer *et al.*, 1998).

Si en el rango de distribución de una especie existen poblaciones genéticamente distintas cada una debe considerarse como independiente con fines de manejo, lo cual implica el establecimiento de acuerdos internacionales. Los estudios genéticos utilizan diferentes herramientas moleculares para identificar poblaciones genéticamente discretas mediante la variación genética contenida en el ADN mitocondrial (ADNmt) o el ADN nuclear. En el caso del ADNmt usualmente se estudian a través de secuencias de genes individuales mientras que, en el caso del nuclear, se estudia en variaciones en secuencias cortas de ADN repetitivo llamadas microsatélites.

Es importante mencionar que el ADNmt se hereda únicamente por parte de la madre por lo que la información que brinda es parcial mientras que el ADN nuclear se hereda de ambos progenitores y por tanto es en tamaño mucho mayor (200 veces mayor) que el genoma mitocondrial lo que dificulta contar con una representatividad suficiente para detectar diferencias genéticas resultantes de la historia evolutiva de las poblaciones.

Así, en el caso del ADN nuclear por lo general el número de regiones de ADN (loci) que se estudian son limitadas, por poner un ejemplo mientras que en el ser humano el genoma contiene cerca de 20,000 a 25,000 genes, los estudios con microsatélites apenas representan 20 regiones genómicas (loci). Esto es muy limitado para encontrar diferencias en especies con un tamaño de genoma hasta dos veces mayor que el del ser humano (6 millones de bases aproximadamente para *C. hippurus*).

Por ejemplo, en un estudio publicado por Díaz-Jaimes *et al.* (2010) utilizando la secuencia de un gen mitocondrial no se lograron detectar diferencias entre las poblaciones de dorado del océano Pacífico y el Atlántico, no obstante, de que ambas han estado separadas desde hace al menos 4 millones de años por el Istmo de Panamá. En un estudio posterior utilizando 20 microsatélites en el Pacífico oriental se lograron detectar diferencias entre individuos de las porciones más alejadas de la distribución del dorado hacia el norte (Baja California México) y el sur del Pacífico oriental (Ecuador-Perú). Sin embargo, las muestras utilizadas provinieron de capturas comerciales por lo que la ubicación de los individuos es incierta. Similarmente los individuos utilizados representan una mezcla de edades y sexos lo que dificulta aún más detectar diferencias genéticas debidas a dispersión limitada de los individuos.

La experiencia obtenida para el dorado, nos lleva a la necesidad de un muestreo estructurado en diferentes edades (juveniles y adultos) y sexos, para lograr determinar diferencias poblacionales e interpretarlas adecuadamente en caso de que se confirman. Además de lo anterior, utilizar aproximaciones más eficaces basadas en la aplicación de la secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing [NGS]), con las que sea posible secuenciar gran cantidad de segmentos de ADN de forma masiva y en paralelo, en menor cantidad de tiempo y a un menor costo por base (Green & Guyer, 2011; Lander, 2011). A través de estos protocolos se obtiene información de entre un 30-40% del genoma de la especie incrementando la habilidad de detectar diferencias genéticas poblacionales a partir de sustituciones puntuales en sitios específicos de una cadena de ADN conocidas como SNPs (Single Nucleotide Polimorphisms, por sus siglas en inglés) las cuales al ser muy abundantes a lo largo del genoma proveen ventajas respecto de los marcadores moleculares tradicionales tales como, a) tener una mejor representación del genoma lo cual lleva a un incremento en la posibilidad de detectar diferencias sutiles, b) es posible diferenciar la señal de divergencia neutral de la producida por selección

adaptativa, c) menor costo por muestra que los marcadores individuales, y d) mejor resolución de la señal de divergencia a nivel de poblaciones.

El desarrollo de la secuenciación masiva ha permitido entender de mejor manera los procesos oceanográficos que afectan y generan estructuración genética (Hemmer-Hansen *et al.*, 2014) a una escala ecológica. El uso de protocolos de secuenciación que fragmentan el ADN a través de enzimas de restricción (RADseq), han generado una cantidad de datos inmensa que ha logrado detectar regiones en el genoma que están sometidos a procesos de selección y que pueden ser detectados mediante SNPs conocidos como outliers (Milano *et al.*, 2014; Carreras *et al.*, 2019). Por lo que determinar y caracterizar esas regiones que pudieran estar sujetas a un proceso de selección resulta primordial en especies que están sometidas a una presión pesquera, como es el caso del mahi-mahi.

II. OBJETIVO

Caracterizar genómicamente poblaciones de mahi-mahi en el Océano Pacífico Oriental, con la finalidad de detectar diferencias que apoyen la hipótesis de la existencia de poblaciones diferenciadas y su relación con procesos evolutivos y ecológicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 🌿 Estimar parámetros de diversidad genética de individuos adultos y juveniles de mahi-mahi.
- 🌿 Determinar los diferentes grupos genéticos en adultos y juveniles de mahi-mahi.
- 🌿 Estimar los niveles de diferenciación genética entre los grupos definidos.
- 🌿 Obtener SNPs asociados a procesos de selección adaptativa.
- 🌿 Evaluar patrones evolutivos obtenidos utilizando SNPs neutrales y aquellos bajo selección adaptativa.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREO

Con la finalidad de tener un muestreo estandarizado para todas las localidades se elaboró un protocolo donde se detalló la forma de colecta de las muestras y su almacenamiento (Anexo I). Para la colecta, además de la participación de todas las instituciones involucradas, se contó con la colaboración de la Empresa Frumar, en Costa Rica, y de observadores a bordo del programa de la Comisión Interamericana del Atún Tropical.

En la figura 1 se muestra la posición geográfica de las localidades de colecta así como el número de juveniles y adultos de los cuales fue posible obtener una muestra de músculo. A reserva de las muestras colectadas en Perú (las cuales fueron semi-procesadas en IMARPE), las muestras fueron enviadas al laboratorio de genética de organismos acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM para su pre-procesamiento. Una vez recibido el ADN digerido de las muestras de Perú junto con los tejidos recibidos en la UNAM, fueron preparadas la librerías genómicas correspondientes y enviadas a la

Universidad de Georgia para su secuenciación. El número de muestras colectadas y enviadas a secuenciar se presenta en la tabla 1.

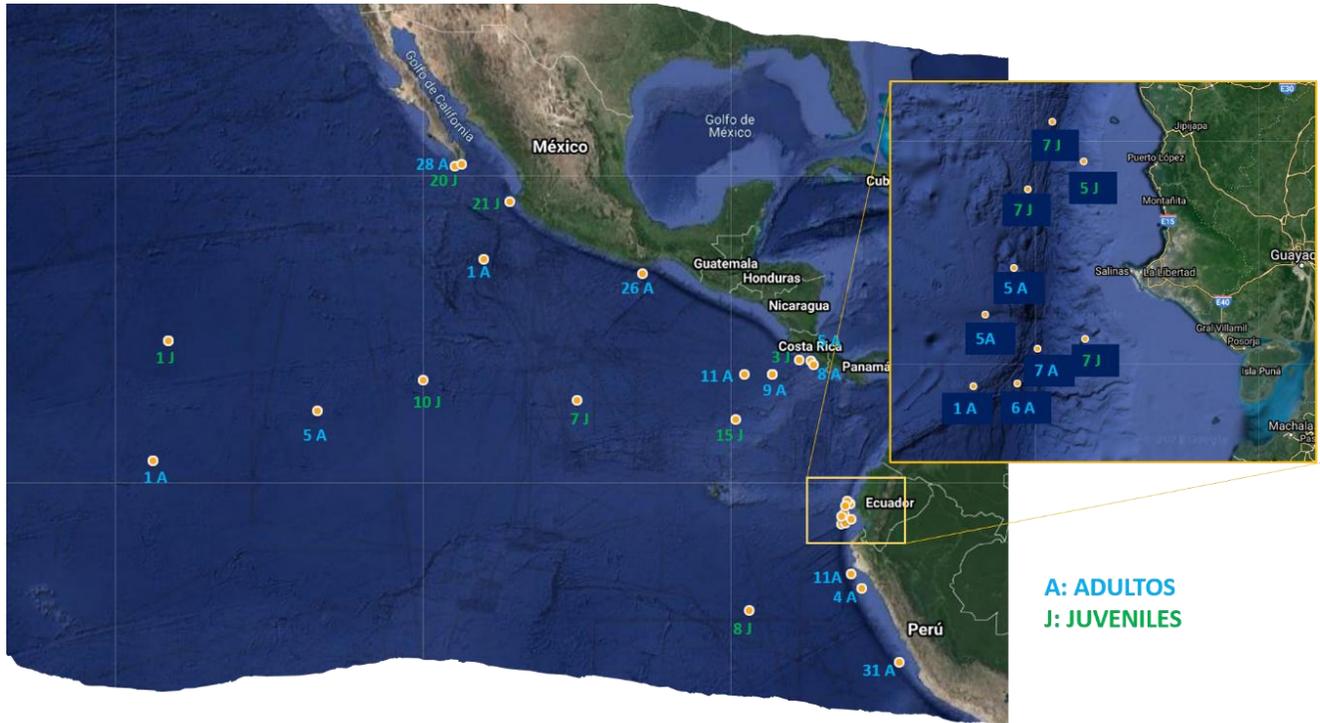


Figura 1. Sitios de colecta de muestras de juveniles y adultos de dorado en el Océano Pacífico Oriental. El número indica el tamaño de muestra de cada localidad.

Tabla 1. Número de individuos adultos y juveniles y su rango de tallas respectivo colectados por localidad.

Localidades (ID)	Adultos	Rango de tallas	Juveniles	Rango de tallas	Machos	Hembras
Cabo San Lucas, México (CSL)	28	89-95	20	42-66	18	30

Bahía Banderas, México (BB)	-	-	21	43-65.5	7	14
Puerto Ángel, México (PAO)	26	91-117	-	-	8	18
Puntarenas, Costa Rica (PUN)	30	93-170	18	52.3-72.8	15	33
Santa Rosa, Ecuador (SR)	30	80.9-108.6	24	41.8-56.8	21	33
Paita, Perú (PA)	31	81-92	-	-	5	18
Pucusana, Perú (PUC)	15	74-85	8	61-64	5	15
Oceánica (OC)	10	80-128	20	39-49	10	18

PROCESAMIENTO EN EL LABORATORIO

Con el objetivo de facilitar el envío de muestras desde el laboratorio del IMARPE en Perú y al mismo tiempo obtener los mismos resultados en la elaboración de las librerías, los pasos iniciales de la digestión se realizaron en laboratorio del IMARPE y en el de ICMyL-UNAM utilizando las mismas enzimas. Los productos digeridos fueron enviados al laboratorio de la UNAM donde fue finalizada la preparación de las librerías.

Se elaboraron librerías genómicas de los individuos colectados siguiendo el protocolo 3RAD de Bayona-Vásquez *et al.* (2019), el cual fragmenta el ADN mediante enzimas de restricción. En breve, las muestras de ADN fueron normalizadas a una concentración de 20 ng / μ l antes de ser digeridas con la siguiente combinación de enzimas: ClaI, MspI y Bam-HI. Una vez digerido el ADN

se ligaron adaptadores enzimáticos específicos a los productos, una de las ventajas del protocolo 3RAD es que al utilizar tres enzimas es posible eliminar los dímeros y quimeras generados por los residuos de los adaptadores, y de esta forma generar librerías genómicas con una mayor calidad al eliminar secuencias repetidas desde el procesamiento inicial. La enzima MspI es la encargada de digerir estos residuos ya que los adaptadores utilizados corresponden a las enzimas ClaI y Bam-HI. Una vez concluido el proceso de ligación, cada producto fue purificado empleando perlas magnéticas, y etanol al 80% que nos permite retener fragmentos de ADN de mayor calidad. Las perlas magnéticas son removidas al terminar este proceso, los productos finales fueron resuspendidos en 20 µl de buffer TE 1X. Para generar las librerías completas, los productos ligados se amplificaron utilizando cebadores iTru5 e iTru7 (Glenn *et al.*, 2019), y fueron visualizados en un gel de agarosa al 1.5X para detectar que las librerías generaron productos con un tamaño de fragmento entre los 300 pb a los 800 pb.. Los productos de PCR se purificaron y combinaron en volúmenes equimolares, y las muestras de las distintas localidades fueron divididas al azar en tres “pools” de 96 individuos cada uno, esto nos permitió evitar sesgos por secuenciación.

Las genotecas agrupadas se seleccionaron por tamaño en un rango de 550 pb \pm 12%. Los fragmentos seleccionados por tamaño se purificaron y se amplificaron mediante una PCR final con los cebadores P5 y P7 (Glenn *et al.*, 2019). La secuenciación se llevó a cabo utilizando un equipo Illumina NextSeq para generar datos de PE150 en el Georgia Genomics and Bioinformatics Core de la Universidad de Georgia en Atenas.

El análisis bioinformático se puede dividir en tres pasos, limpieza de datos, ensamblaje y cálculos poblacionales. Stacks 2.2 (Catchen *et al.*, 2013; Rochette *et al.*, 2019) fue el software utilizado para el procesamiento inicial, la limpieza de datos se realizó empleando el módulo *process_radtags*, utilizando la combinación de los adaptadores se identificó el sitio de corte de las enzimas de

restricción, y se realizó un proceso “demultiplex” para identificar las secuencias que pertenecen a cada individuo, se eliminaron secuencias de baja calidad y se cortaron las secuencias en 139 pb. El ensamblaje de los locus se llevó a cabo con el método *de-novo*, el cual se recomienda realizar cuando no se cuenta con un genoma de referencia.

La definición de los parámetros más adecuados para no estimar o subestimar la generación de alelos, locus y variantes, se hizo optimizando cada uno de los siguientes parámetros; *m* (indica la cantidad de lecturas mínimas para formar un alelo), *M* (número mínimo de inconsistencias entre alelos para formar un locus) y *n* (número mínimo entre alelos que genera los catálogos de locus).

Finalmente, el módulo “*populations*” fue utilizado para el filtraje y llamado de SNPs, considerando un valor máximo de heterocigosis del 75% para evitar parálogos, se utilizó la regla del 80, que indica que un locus será retenido si se presentan en el 80% de los individuos en una población, se seleccionó solamente un SNP al azar por locus (con la opción `--write-random-snp`) para evitar el desequilibrio de ligamiento.

Para evaluar si la cantidad de datos faltantes, proporción de machos o hembras o si los individuos juveniles o adultos tenían algún efecto en la estructuración de las poblaciones, se tomó la decisión de seguir cuatro estrategias. La cantidad de datos faltantes en los análisis genómicos parece no influir de manera sustancial en los resultados finales (Pedraza-Marron *et al.*, 2019; Hosegood *et al.*, 2020), sin embargo un filtrado inicial de locus con datos faltantes puede darnos la pauta de qué efecto podrían tener en la estructuración de las poblaciones. Expuesto lo anterior, la primera estrategia en el manejo de datos consistió en separar individuos en adultos y organismos juveniles y seleccionando sólo un SNP al azar, sin considerar la cantidad de datos faltantes. Para la segunda y tercera estrategia, analizamos los datos en conjunto sin considerar la separación entre adultos y juveniles. Considerando el efecto de los

datos faltantes, la primera base se elaboró considerando un filtro inicial eliminando el 50% de locus faltantes así como los alelos que presentaron valores inferiores al 0.05 de frecuencia. La segunda base generada consistió en seleccionar un solo SNP por locus al azar sin considerar el valor de los datos faltantes. Por último, con la cuarta estrategia evaluamos la estructura genética de las poblaciones al considerar hembras y machos sin importar la clase de edad.

CÁLCULOS POBLACIONALES

A partir de los parámetros anteriores se obtuvo una base de variantes (SNPs) que fue transformada a los formatos correspondientes con el paquete PGDspider v 2.0.7.3 (Lischer & Excoffier, 2012). La diversidad genética se estimó en términos de la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_s) y riqueza alélica (A_r). Los valores de cada parámetro se obtuvieron con el paquete de R 'hierfstat' (Goudet, 2020).

Para inferir la estructura genética de mahi-mahi se empleó un análisis discriminante de componentes principales (DAPC). Este enfoque estadístico multivariado maximiza la variación entre grupos transformando primero los datos por medio de un análisis de componentes principales y subsecuentemente, los grupos genéticos se infieren a partir de un análisis discriminante (Jombart *et al.*, 2010). Este método se realizó por medio del paquete de R 'adegenet' (Jombart, 2008). Para evaluar si el patrón de estructuración observado tiene sustento estadístico se corrió un análisis de varianza molecular (AMOVA) usando 10,000 permutaciones, permitiendo un 25% de datos faltantes con Arlequín (Excoffier & Lischer, 2010). Además, se evaluó la diferenciación genética entre pares de poblaciones usando F_{ST} . El valor asociado de significancia estadística p se evaluó con base en 10,000 permutaciones usando Arlequin.

Para los análisis poblacionales, los diferentes estimadores tanto de diversidad como de divergencia genética se obtuvieron de manera

independiente considerando las tres estrategias de análisis; para todo el conjunto de datos, separando los individuos adultos y juveniles, y separando a los individuos entre machos y hembras.

El determinar variables que puedan detectar señales de selección adaptativa es una de las mayores ventajas que la secuenciación masiva ha permitido estudiar. El uso de marcadores conocidos como “outliers SNP” que son aquellas variantes que presentan grandes diferencias en las frecuencias alélicas ha resultado en la determinación de subgrupos dentro de las poblaciones analizadas en diversos estudios, como ha sido el caso del atún aleta amarilla (Pecoraro *et al.*, 2018). Existen actualmente una gran cantidad de estrategias que permiten encontrar estas variables, entre las más comunes se encuentran las que están fundamentadas en la hipótesis bayesiana, sin embargo, esta es una estrategia que demanda bastante tiempo computacional, y es necesario establecer posibles grupos o poblaciones que permitan inferir las frecuencias alélicas (Foll & Gaggiotti 2008). La aproximación empleada en el presente trabajo, utiliza la evaluación de variantes a través de análisis de componentes principales (PCA), y una de sus ventajas radica en que no es necesario contar con una agrupación previa y es efectiva en la detección de “outliers” en poblaciones que presentan altos niveles de flujo génico, como se podría esperar en el mahi-mahi (Luu *et al.*, 2016; Privé *et al.*, 2020). El paquete de R *pcadapt* fue utilizado con los parámetros por default, en primera instancia un análisis de distancias de mahalanobis que permite emplear los PCA de manera robusta. El método de selección de outliers fue el de corrección de Bonferroni con un valor de alfa de 0.1.

IV. RESULTADOS

Un total de 272 librerías genómicas de la especie *Coryphaena hippurus* fueron elaboradas exitosamente de las cuales 111 corresponden a organismos

juveniles de seis localidades (CSL, OC, BB, PUN, SR, y PA) y 161 organismos adultos de siete localidades (CSL, OC, PAO, PUN, SR, PA, y PUC). La secuenciación genómica se realizó en un equipo Illumina PE150 en dos corridas independientes (2 “lane”). Fueron generadas un total de 576 millones de lecturas para tres grupos de 96 muestras (material suplementario Anexo II). Los resultados de secuenciación fueron recibidos en dos periodos de tiempo, 300 millones de lecturas que corresponden a la primer corrida de lane 6, se entregaron en el mes de Julio del año en curso, mientras que 276 millones fueron recibidos en un segundo período en Agosto de 2021, y corresponden a la segunda corrida del lane 3. La cobertura de secuenciación por individuo tuvo un rango de entre 21X a 70X tanto para adultos como para juveniles de las localidades muestreadas, únicamente un individuo perteneciente a las muestras oceánicas y que corresponde a un organismo juvenil (Oce15) presentó una cobertura baja de 4X (Fig. 1, Anexo III).

Dos millones de lecturas en promedio por individuo fueron recuperadas después del procesamiento de datos. El ensamblado *de novo* fue optimizado utilizando valores de 2-10 para ***M***, con la finalidad de recuperar la mayor cantidad de locus polimórficos. El valor de 2, fue el que presentó los mayores locus polimórficos, tanto al realizar el análisis con ***m***= 2 y 3 de (tabla 1, Anexo IV). Una vez que determinó que ***M***= 2 y ***m***= 3 recuperaban de manera adecuada los locus polimórficos, además se optimizó el valor de ***n*** utilizando valores entre 0 y 10; los resultados se muestran en las tablas anexas (tabla 2, Anexo IV). El valor de ***n***= 7 presentó la mayor cantidad de locus y SNPs, por lo que fue el seleccionado para los análisis posteriores (tabla 2, Anexo IV).

El ensamblado se realizó con todos los individuos, un total de 285,271 SNPs fueron recuperados para los 272 organismos, esta cantidad de SNPs lo encontramos en 29,027 locus de los cuales 27,722 resultaron ser polimórficos. Seguimos cuatro estrategias de análisis de datos: 1) utilizando los 272 individuos secuenciados y filtrando un SNP por locus al azar; 2) con los mismos 272

individuos, utilizando un filtro de missing data de 50 %, y eliminando alelos con frecuencias menores a 0.05; 3) separando los individuos de *C. hippurus* por sexo filtrando un SNP por locus al azar; y 4) se separaron a los individuos de *C. hippurus* haciendo distinción entre adultos y juveniles. Para el presente informe, se presentan los resultados obtenidos con las estrategias 1 y 4.

La cantidad de SNPs y locus varió dependiendo de los filtros utilizados en las cuatro estrategias que seguimos. Al utilizar un SNP al azar y considerando a los organismos como adultos y juveniles obtuvimos un total de 27,294 variantes (SNPs), para ambos grupos. Al considerar todos los individuos sin importar la clase de edad pero eliminando los locus que presentaran el 50% de datos faltantes y alelos con frecuencias menores de 0.05, obtuvimos un total de 16,405 SNPs, la tercer estrategia considerando todos los individuos y seleccionando sólo un SNP al azar nos dio como resultado un total de 27,294. Finalmente la cuarta estrategia considerando a las hembras y machos de igual manera se recuperaron 27,294 SNPs para ambos conjuntos de datos.

CÁLCULOS POBLACIONALES

Con base en el total de individuos colectados y utilizando la estrategia 1 de análisis (utilizando los 272 individuos secuenciados y filtrando un SNP por locus al azar) se recuperaron 27,294 SNPs a partir de los cuales se realizaron los análisis de diversidad y estructura genética que a continuación se detallan. En el caso de la estrategia 4 (separando juveniles y adultos) se recuperaron 17,266 SNPs para individuos adultos y 26,133 SNPs para individuos juveniles.

La diversidad genética se refiere a la variación heredada dentro y entre poblaciones de una especie. Mientras mayor sea la diversidad genética mayor es la capacidad de una población de adaptarse a los cambios en el ambiente. Por lo tanto, una población con poca variabilidad, tendrá un riesgo mayor frente a estos cambios. El número y la cantidad de alelos en una población es una medida de variación genética llamada heterocigosidad. Para *Coryphaena hippurus* los

parámetros de diversidad genética indicaron variación moderada a lo largo de las localidades analizadas, incluyendo a todos los individuos (272), individuos juveniles y adultos (Fig. 2, 3, y 4). La heterocigosidad resultó similar para las tres bases de datos. Para todos los individuos la H_o varió de 0.047 a 0.076; H_s de 0.053 a 0.089; y la riqueza alélica de 1.053 a 1.088 (Fig. 2). Para los individuos adultos los estimados de H_o y H_s se ubicaron en un rango desde 0.043 a 0.055 y 0.050 a 0.065, respectivamente (Fig. 3). La riqueza alélica osciló entre 1.053 a 1.067. Para los individuos juveniles la H_o varió de 0.050 a 0.081; H_s desde 0.054 a 0.093; y la A_r de 1.054 a 1.093 (Fig. 4). No se identificaron diferencias potenciales entre localidades de ambas cohortes.

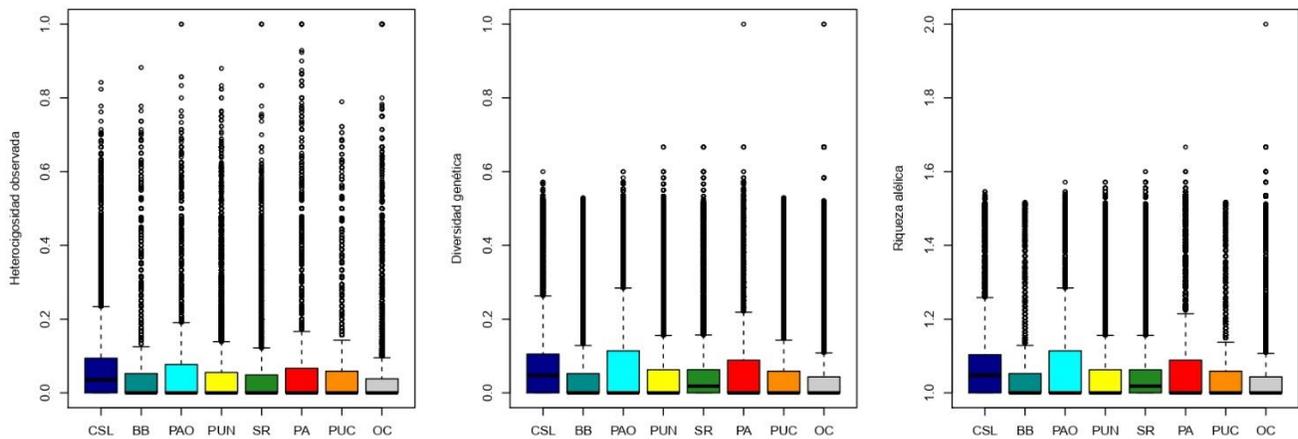


Figura 2. Estimados de diversidad genética de todos los individuos de mahi-mahi, *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Oriental. De izquierda a derecha: heterocigosidad observada (H_o), la diversidad genética (H_s), y riqueza alélica (A_r). CSL, Cabo San Lucas (norte de México); BB, Bahía Banderas (centro de México); PAO, Puerto Ángel (sur de México); PUN, Puntarenas (Costa Rica); SR, Santa Rosa (Ecuador); PA, Paita (norte de Perú); PUC, Pucusana (Centro de Perú); OC, Oceánicas.

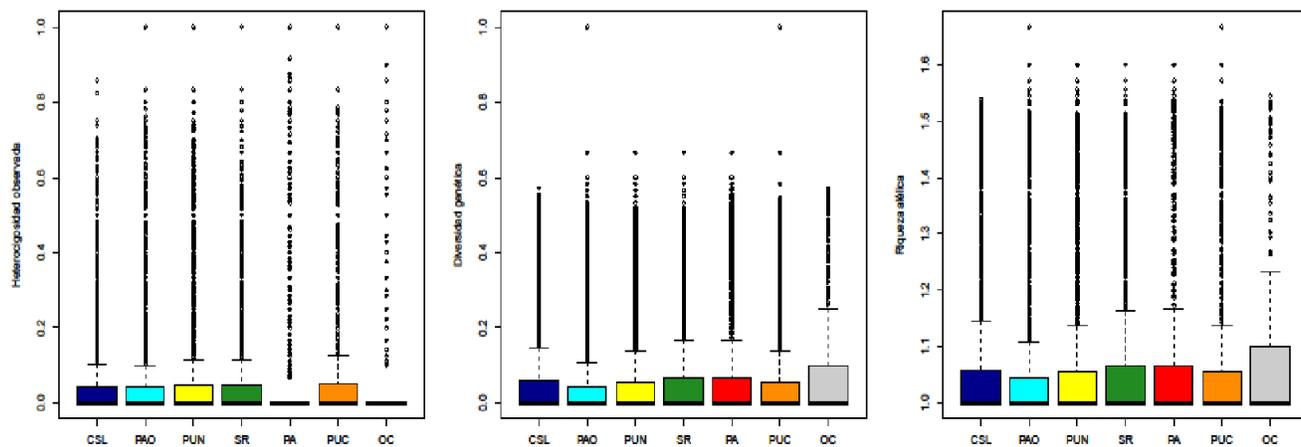


Figura 3. Estimados de diversidad genética de individuos adultos de mahi-mahi, *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Oriental. De izquierda a derecha: heterocigosidad observada (H_o), la diversidad genética (H_s), y riqueza alélica (A_r). CSL, Cabo San Lucas (norte de México); PAO, Puerto Ángel (sur de México); PUN, Puntarenas (Costa Ricas); SR, Santa Rosa (Ecuador); PA, Paita (norte de Perú); PUC, Pucusana (Centro de Perú); OC, Oceánicas.

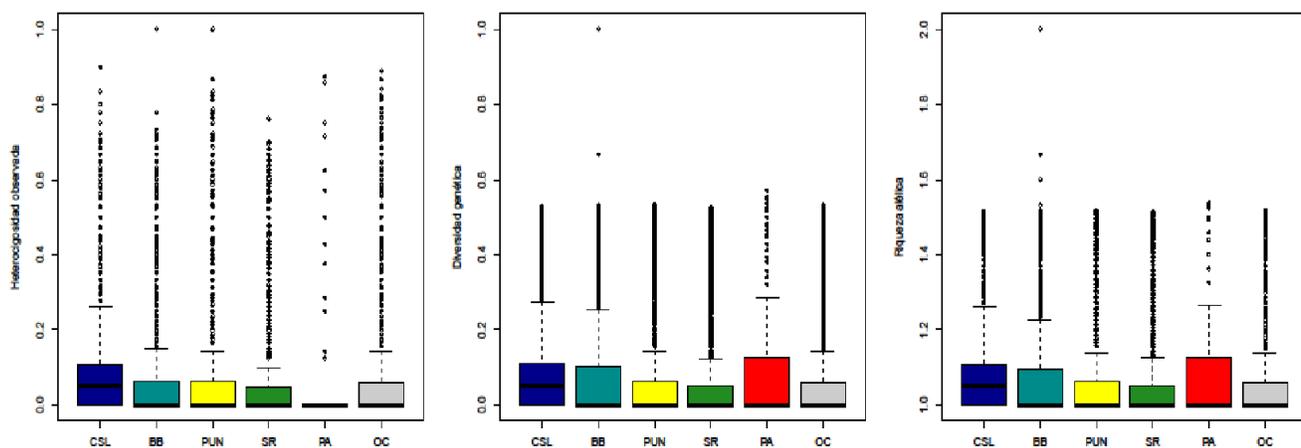


Figura 4. Estimados de diversidad genética de individuos juveniles de mahi-mahi, *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Oriental. De izquierda a derecha: heterocigosidad observada (H_o), la diversidad genética (H_s), y riqueza alélica (A_r). CSL, Cabo San Lucas (norte de México); BB, Bahía Banderas (centro de México); PUN, Puntarenas (Costa Rica); SR, Santa Rosa (Ecuador); PA, Paita (norte de Perú); OC, Oceánicas.

Cuando las poblaciones naturales muestran diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas de una región a otra, es posible asumir que éstas muestran diferenciación genética. Una parte fundamental del estudio de la estructura genética (es decir, cómo se distribuye la diversidad genética en el espacio geográfico) es poder asignar a los individuos con base a sus frecuencias alélicas y genotípicas a un número específico de poblaciones o grupos de poblaciones diferenciados. Por lo tanto, los individuos de una misma población son genéticamente más similares entre sí que con individuos de otras poblaciones. Definir la estructura genética y establecer los niveles de diferenciación genética entre poblaciones tiene profundas implicaciones en el manejo y administración de los recursos pesqueros.

Análisis discriminante de componentes principales

Los resultados de estructura genética basados en el DAPC indican que en ambas estrategias de análisis (total de individuos y adultos-juveniles) se detectan poblaciones diferenciadas.

Utilizando el total de individuos en la figura 5 se observa la existencia de poblaciones genéticamente diferenciadas (Puerto Ángel, Puntarenas, Santa Rosa y Paita), en tanto que el resto de poblaciones se ubican cerca del centroide.

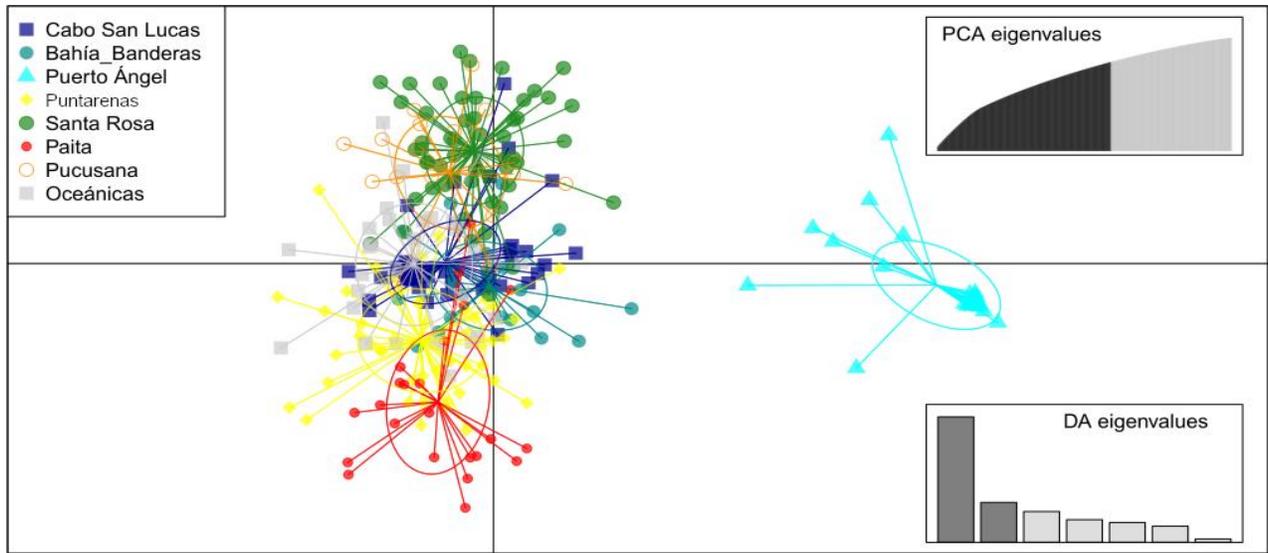


Figura 5. Patrón de estructuración del total de individuos de mahi-mahi (272) empleando DAPC.

Por su parte el análisis de probabilidad de asignación de cada individuo a un cluster o población (bar-plot), confirma la asignación de los individuos a sus respectivas poblaciones (Figura 6). En los clusters sin embargo se observa evidencia algún grado de flujo genético entre las diferentes localidades estudiadas, especialmente entre Cabo San Lucas con Paíta y Santa Rosa.

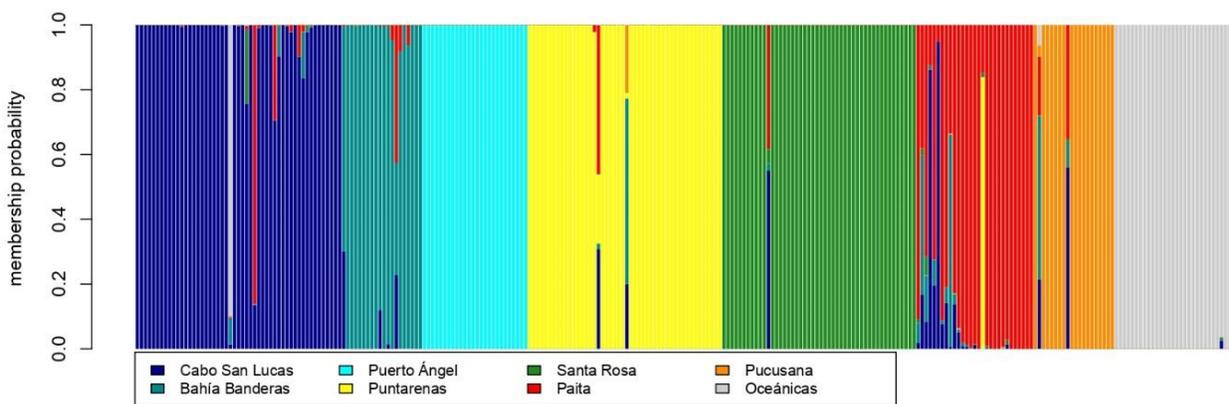


Figura 6. Patrón de estructuración del total de individuos de mahi-mahi (272) empleando un gráfico de la probabilidad de pertenecer a n grupos. Cada individuo se representa en una barra vertical, cada color de la barra representa la probabilidad (proporcional al largo de cada color) de pertenecer a n número de grupos genéticos.

Por su parte en los análisis de adultos las poblaciones que se separan son; Oceánicas, Puntarenas, Santa Rosa y Pucusana (Figuras 7 y 8), mientras que en juveniles se separan las poblaciones de Cabo San Lucas y Bahía Banderas (Figuras 9 y 10).

En el 'bar plot' (Fig. 8) donde se asigna la probabilidad de pertenencia de cada individuo a cada localidad, cada individuo se encuentra asignado a su respectiva localidad con indicios de flujo genético entre Cabo San Lucas y Puerto Angel, y estas dos últimas con Santa Rosa y Paita. Lo cual sugiere que podría haber un complejo patrón de aislamiento y conectividad entre las poblaciones de Cabo San Lucas, Puerto Ángel, Santa Rosa, y Paita (Fig. 8).

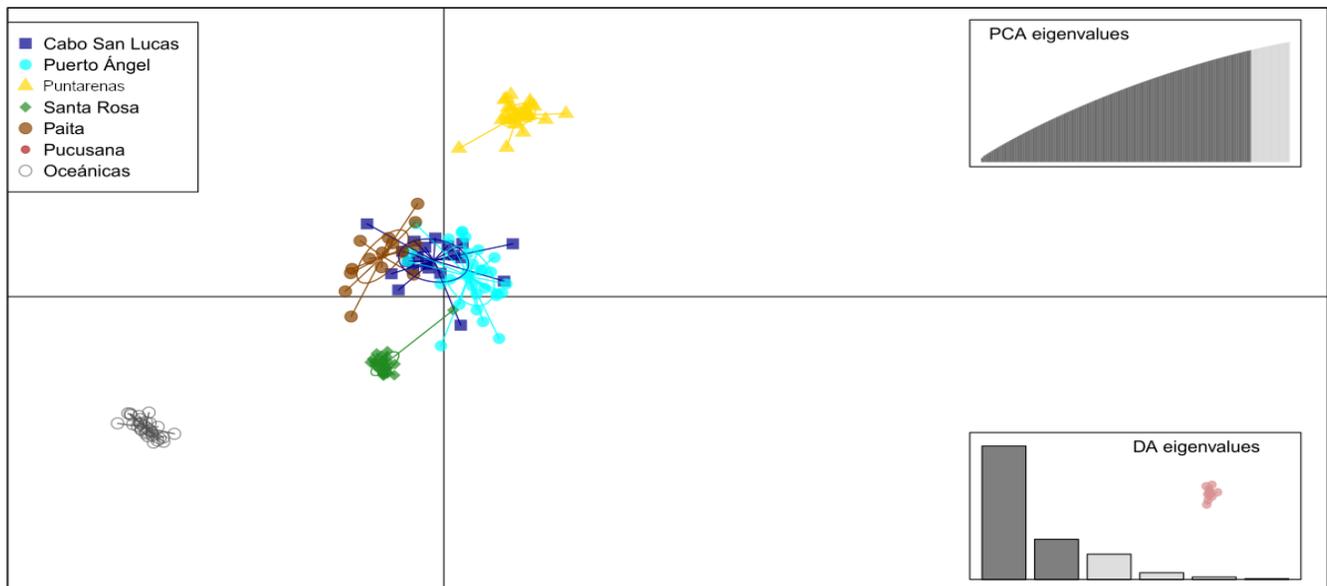


Figura 7. Patrón de estructuración de individuos adultos de mahi-mahi empleando DAPC.

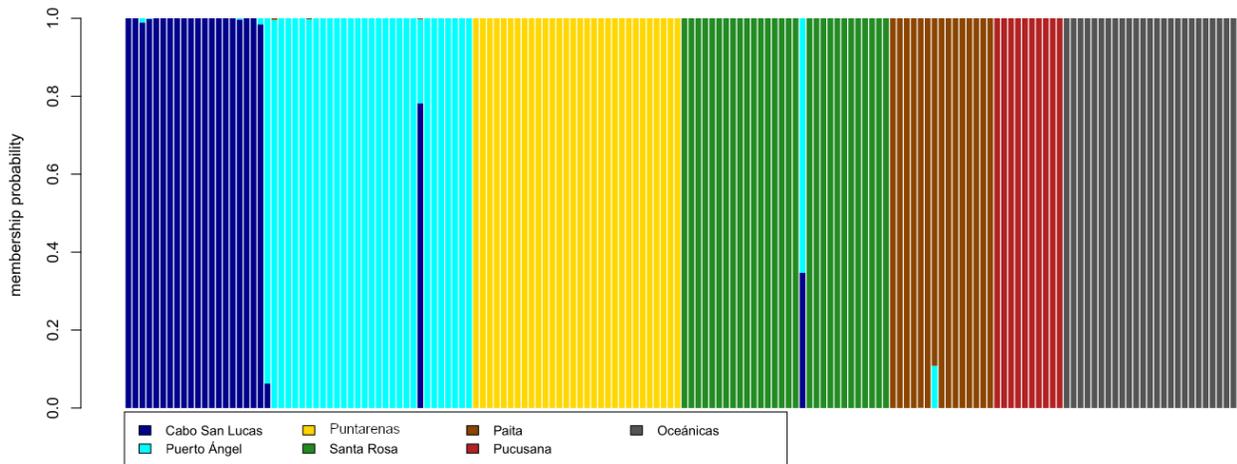


Figura 8. Patrón de estructuración de individuos adultos de mahi-mahi donde se observa la probabilidad de pertenecer a n grupos. Cada individuo se representa en una barra vertical, cada color de la barra representa la probabilidad (proporcional al largo de cada color) de pertenecer a n número de grupos genéticos.

Con respecto a los individuos juveniles, el DAPC sugirió claramente una separación en tres grupos: 1) Cabo San Lucas (norte de México); 2) Bahía Banderas (Centro de México); y 3) el resto de las localidades (Puntarenas, Santa Rosa, Paita, y Oceánicas) se agruparon en otro independiente (Fig. 6), por lo cual, entre dichas localidades se observa un alto grado de conectividad (Fig.9).

La asignación de individuos en el bar plot (Figura 10) muestra la pertenencia de los individuos de Cabo San Lucas y Bahía Banderas a sus respectivas localidades y una gran mezcla de los individuos del resto de las localidades.

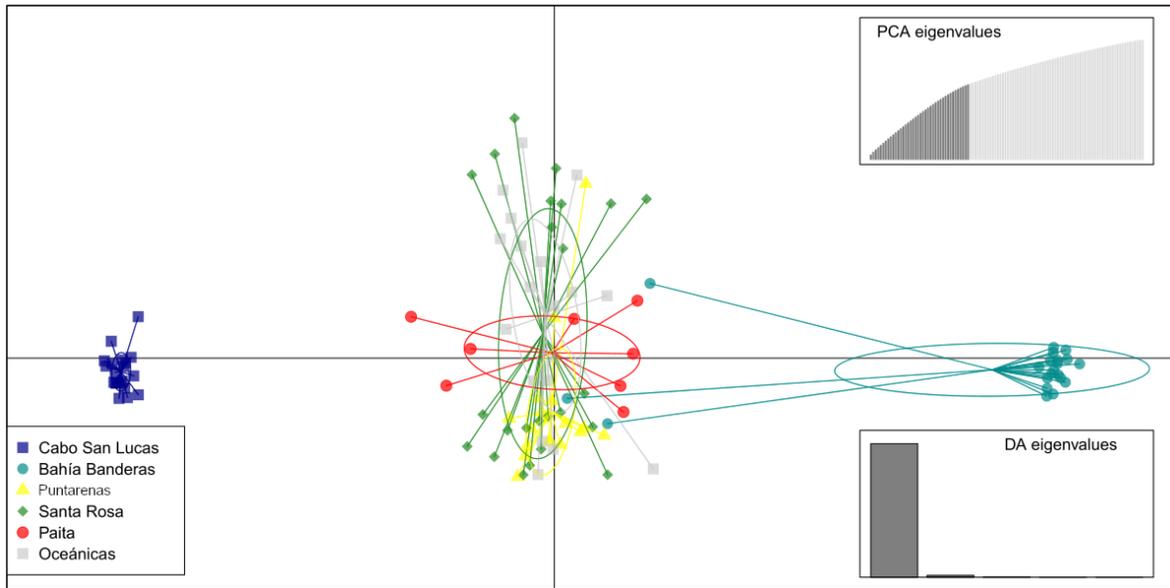


Figura 9. Patrón de estructuración de individuos juveniles de mahi-mahi empleando DAPC.

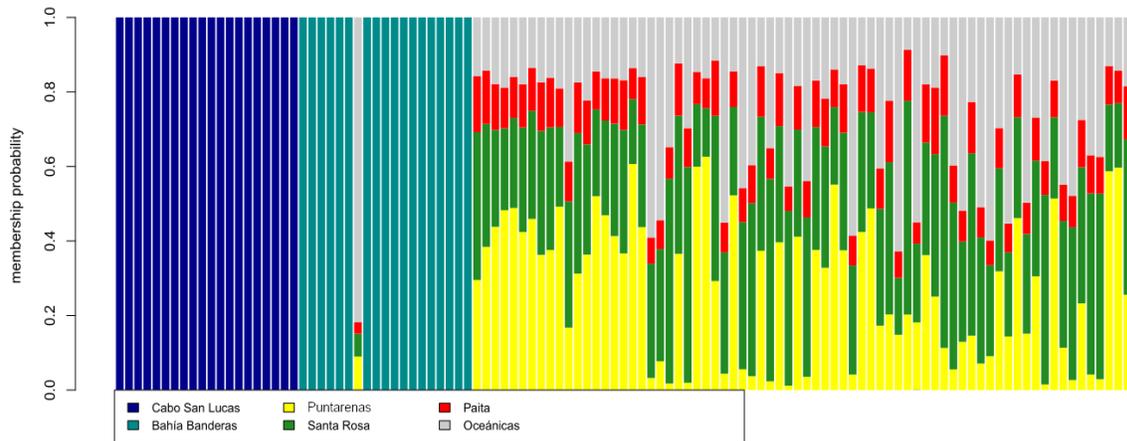


Figura 10. Gráfico de la probabilidad de pertenecer a n grupos (panel inferior). Cada individuo se representa en una barra vertical, cada color de la barra representa la probabilidad (proporcional al largo de cada color) de pertenecer a n número de grupos genéticos.

Los DAPC separando a los individuos entre machos y hembras muestra un patrón similar separando Puerto Ángel y Puntarenas en ambos casos (Figura 2A y 3A Anexo V).

Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

Para probar si las diferencias genéticas pueden ser representadas a través de la formación de grupos hipotéticos se realizó un análisis de AMOVA. Esto bajo el supuesto de la existencia de grupos genéticos bien definidos en función de su cercanía o ubicación geográfica. De esta forma, en el caso del total de individuos se consideraron 4 grupos; Grupo 1 Oceánicas; Grupo 2 Cabo San Lucas; Grupo 3 Bahía Banderas-Puerto Ángel-Puntarenas-Santa Rosa; Grupo 4 Paita-Pucusana. El AMOVA dio como resultado un valor bajo para las diferencias entre los grupos formados aunque significativo ($F_{CT} = 0.00065$; $P=0.04$; Tabla 2). El agrupamiento probado resultó significativo aún aplicando un filtro diferente de los datos (estrategia 2; considerando datos faltantes en un 50% máximo y eliminando alelos con frecuencias menores a 0.05; Tabla 1A del anexo V).

Tabla 2. Análisis de varianza molecular incluyendo los 272 individuos secuenciados de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
Entre grupos	0.06475	F _{CT} = 0.00065	0.044
Entre poblaciones dentro de grupos	0.22761	F _{SC} = 0.00228	0.010
Dentro de poblaciones	99.70764	F _{ST} = 0.00292	0

Hipótesis de agrupación: Grupo 1: Oceánicas; Grupo 2: Cabo San Lucas; Grupo 3: Bahía Banderas, Puerto Ángel, Puntarenas, y Santa Rosa; Grupo 4: Paita y Pucusana.

En el caso de los adultos, se consideraron 4 grupos; Grupo 1 Océánicas; Grupo 2 Cabo San Lucas; Grupo 3 Puerto Ángel-Puntarenas y Santa Rosa; Grupo 4 Paita y Pucusana. El AMOVA resultó en una estimación de diferencias entre grupos bajo y marginalmente significativo ($F_{CT} = 0.00098$; $P=0.06$; Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de individuos adultos de *Coryphaena hippurus* con base en tres hipótesis de agrupación.

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
Entre grupos	0.09802	$F_{CT} = 0.00098$	0.060
Entre poblaciones dentro de grupos	0.30013	$F_{SC} = 0.00300^*$	0.002
Dentro de poblaciones	99.60185	$F_{ST} = 0.00398^*$	0

* $p < 0.05$. Grupo 1: Cabo San Lucas; Grupo 2: Océánicas; Grupo 3: Puerto Ángel, Puntarenas y Santa Rosa; Grupo 4: Paita y Pucusana.

El estadístico de diferenciación genética entre poblaciones dentro de los grupos, F_{SC} para el total de las muestras y los adultos, resultó significativo indicando subestructuración más fina al interior de los grupos.

Finalmente, en juveniles se consideraron 5 grupos; Grupo 1 Océánicas; Grupo 2 Cabo San Lucas; Grupos 3 Bahía Banderas; Grupo 4 Santa Rosa; Grupo 5 Paita-Pucusana. Dicho agrupamiento resultó en la ausencia de diferencias genéticas significativas entre grupos, aunque tampoco entre poblaciones dentro de los grupos (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de varianza molecular de individuos juveniles de *Coryphaena hippurus* con base en la hipótesis de agrupación encontrada con DAPC. F_{ST} global = 0; $p = 1$

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
Entre grupos	0.17607	$F_{CT} = 0.00176$	0.21455
Entre poblaciones dentro de grupos	0.33293	$F_{SC} = 0.00334$	0.23198
Dentro de poblaciones	99.49099	$F_{ST} = 0.00509^*$	0.00000

* $p < 0.05$. Hipótesis de agrupación: Grupo 1: Oceánicas; Grupo 2: Cabo San Lucas; Grupo 3: Bahía Banderas; Grupo 4: Puerto Ángel, Grupo 5: Puntarenas y Santa Rosa.

El AMOVA considerando machos consideró 4 grupos: Grupo 1 Oceánicas; Grupo 2 Cabo San Lucas; Grupo 3 Bahía Banderas-Puerto Ángel-Puntarenas-Santa Rosa; Grupo 4 Paita-Pucusana, resultó en la ausencia de diferencias significativas ($F_{CT} = 0.0003$; $P=0.4$; Tabla 3A Anexo V).

Por su parte el AMOVA considerando hembras y los mismos 4 grupos que en machos, resultó en diferencias significativas entre los grupos ($F_{CT} = 0.0012$; $P=0.02$; Tabla 5A Anexo V).

Se realizaron también estimaciones del estadístico de diferenciación poblacional F_{ST} , para las comparaciones entre pares de localidades, para las diferentes estrategias de análisis los cuales en el caso del total de individuos no resultaron en valores de diferenciación significativos (Tabla 5), en tanto que en adultos revelaron que las poblaciones de Cabo San Lucas en el norte de México, la muestra Oceánica, así como Pucusana en el sur de Perú mostraron diferenciación genética significativa (Tabla 6). Los juveniles por su parte no mostraron diferencias significativas en ninguna comparación (Tabla 7) al igual que en las comparaciones entre machos y hembras (Tablas 4A y 5A del Anexo V).

La ausencia de valores estadísticamente significativos de las F_{ST} podría indicar que las frecuencias de los alelos aún no muestran diferencias importantes que puedan ser detectadas mediante dicho análisis. Sin embargo podría estar influyendo también la pérdida de SNPs durante el manejo de datos en Arlequin pues de los 27,294 SNPs detectados y que fueron usados para el análisis de DAPC, se redujeron a 5,309 en el caso del total de muestras analizadas, mientras que en adultos fue de 4,702 y en juveniles 4,977. No obstante en el AMOVA los patrones de diferenciación resultaron consistentes para el total de individuos incluso aplicando dos estrategias de filtrado de datos. Los resultados de las estrategias 1 (utilizando todos los individuos y un SNP al azar por locus) y la 2 (utilizar todos los individuos descartando los locus que presentaron el 50% de datos faltantes y alelos con frecuencias menores al 0.05), resultaron ser muy similares entre sí; las diferencias genéticas representadas por la formación de los 4 grupos evaluados en un análisis de AMOVA sugiere de forma consistente que existe estructura genética de las poblaciones (Tabla 2 y Tabla 1A Anexo V).

Tabla 5. Valores pareados de F_{ST} entre localidades incluyendo los 272 individuos secuenciados de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar. Nombre de las localidades en Tabla 1.

	CSL	OC	PA	PUC	SR	PUN	PAO	BB
CSL	0							
OC	-0.011	0						
PA	-0.113	-0.113	0					
PUC	-0.064	-0.061	-0.077	0				
SR	-0.009	-0.013	-0.114	-0.066	0			
PUN	-0.020	-0.029	-0.139	-0.080	-0.021	0		
PAO	-0.015	-0.021	-0.117	-0.072	-0.021	-0.034	0	
BB	-0.048	-0.063	-0.169	-0.119	-0.047	-0.052	-0.068	0

Ninguna comparación resultó $p < 0.05$

Tabla 6. Comparación entre pares de poblaciones usando valores pareados de F_{ST} de individuos adultos de *Coryphaena hippurus*. Nombre de las localidades en Tabla 1. F_{ST} global = 0.003; $p = 0.003$.

	CSL	PAO	PUN	PA	PUC	OC	SR
CSL	0						
PAO	0.003	0					
PUN	0.003	0.001	0				
PA	0.0003	0.001	0	0			
PUC	0.005	0.002	0.004	0.002	0		
OC	0.008	0.003	0.005	0.006	0.013	0	
SR	0.002	0	0.002	0.002	0.002	0.011	0

En negritas comparaciones con $p < 0.05$.

Tabla 7. Comparación entre pares de poblaciones usando valores pareados de F_{ST} de individuos juveniles de *Coryphaena hippurus*. Nombre de las localidades en Tabla 1.

	CSL	BB	SR	PUN	PA	OC
CSL	0					
BB	-0.38	0				
SR	-0.27	-0.29	0			
PUN	-0.38	-0.08	-0.25	0		
PA	-0.45	-0.43	-0.27	-0.41	0	
OC	-0.21	-0.33	-0.38	-0.32	-0.53	0

Ninguna comparación resultó con $p < 0.05$.

En resumen, en las estimaciones de diversidad genética se obtuvieron valores similares entre las tres bases analizadas: todos los individuos, adultos, y juveniles. Por su parte, los patrones de estructuración genética resultaron similares tanto para el total de individuos analizados como para adultos. En ambos análisis se forman 4 grupos genéticamente diferenciados; 1) Muestras Oceánicas, 2) Cabo San Lucas, 3) Puerto Angel-Puntarenas-Santa Rosa, y 4) Perú (Paita y Pucusana).

Así, con base en las diferencias es posible distinguir un patrón entre las regiones del norte de México, la franja ecuatorial (Sur de México, Costa Rica y Ecuador), y sur del Pacífico Oriental (Perú), en particular las poblaciones de Cabo San Lucas (norte de México), las muestras Oceánicas, y Perú (Paita y Pucusana) formaron grupos independientes. El patrón de diferencias en hembras, apoya dicho agrupamiento de las muestras sugiriendo que éstas presentan algún grado de residencia o fidelidad a los sitios de alimentación/reproducción que por lo general son áreas cercanas a la costa como ha sido corroborado por otros estudios. Por su parte los machos muestran un mayor grado de dispersión.

La estructura genética en los juveniles resultó menos notoria, aunque es coincidente en separar la región norte (Cabo San Lucas y Bahía Banderas) del resto de las localidades sugiriendo que las localidades de la franja ecuatorial se entremezclan con las del sur del Pacífico. No obstante de alguna forma corrobora en cierta medida el patrón de diferencias norte-sur del mahi-mahi, en el Pacífico oriental.

En general, los resultados pueden ser explicados por los factores oceanográficos que limitan la distribución de la especie. En tanto que hacia el norte y sur del ecuador, la distribución del mahi-mahi ocurre en los límites de la franja de aguas tropicales (24°N-04°S), las localidades de Cabo San Lucas (22°N) y Pucusana (12°S), representan poblaciones en los límites de la distribución de la especie, las poblaciones intermedias, distribuidas en la franja de aguas tropicales, hábitat propicio de la especie, tienen más oportunidad de

entremezcla. En suma, es posible reconocer a las poblaciones en los extremos del límite de distribución de la especie; Cabo San Lucas y Oceánicas en el Norte, y Paita-Pucusana en el Sur, como poblaciones diferenciadas las cuales podrían ser consideradas como unidades poblacionales que requieren del diseño de estrategias de manejo independientes.

Por otra parte, las poblaciones de la franja ecuatorial Puerto Ángel (México), Puntarenas (Costa Rica), y Santa Rosa (Ecuador), deben evaluarse para considerarse como una unidad de manejo aunque posiblemente se requiera de un análisis más detallado de la región que incluya datos de marcaje para evaluar el grado de residencia de los individuos.

En este estudio se consideró el muestreo de juveniles en los diferentes sitios de muestreo, esto con el fin de tener representada la variación genética originada en las localidades de muestreo y con esto tener la posibilidad de registrar diferencias entre los sitios después de un evento reproductivo. No obstante esta cohorte presenta menos diferencias entre los sitios muestreados, lo cual podría indicar que durante un evento reproductivo los individuos adultos que participan provienen de diferentes orígenes. Únicamente las poblaciones de México (Cabo San Lucas y Bahía Banderas), fueron las que se separan claramente del resto. Estas localidades son las que se encuentran mayormente separadas espacialmente del resto, por lo que este resultado es congruente.

Detección de outliers

Un total de 271 y 1,676 genes asociados a selección adaptativa fueron detectados para organismos adultos y juveniles, respectivamente (Fig. 1A, anexo VI). Dichos genes fueron recuperados mediante un análisis de PCA (Tablas 1A y 2A, Anexo VI). Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en el AMOVA (Tabla 3A, Anexo VI), por lo que al parecer la selección adaptativa no muestra un efecto importante en las poblaciones. No obstante este análisis es

preliminar y requiere de mayor profundidad mediante el uso de otras aproximaciones metodológicas basadas en métodos Bayesianos y de genética del paisaje que serán realizados en breve.

V. CONCLUSIONES

Con base en las diferencias encontradas se pudo identificar estructura genética para la especie en las regiones del norte de México, la franja ecuatorial (Sur de México, Costa Rica y Ecuador), y sur del Pacífico Oriental (Perú), en particular las poblaciones de Cabo San Lucas (norte de México), las muestras Oceánicas, y Perú (Paita y Pucusana), ya que formaron grupos genéticos independientes. No obstante, nuestros análisis también revelaron un complejo patrón de flujo genético especialmente en la franja ecuatorial que debe ser tomado en cuenta para el diseño de estrategias de administración de la pesquería en la zona.

Los clusters genéticos determinados en este trabajo deben ser tomados en cuenta al momento de elaborar estrategias de manejo sustentable de la especie *C. hippurus*, pues son consistentes para adultos en general y en especial para las hembras. Considerando que las pesquerías se enfocan en la captura de adultos y una mayor proporción de hembras, los sitios donde se detectaron poblaciones diferenciadas, las hembras deben ser sujetas a un manejo y conservación que considere esta particularidad.

VI. AGRADECIMIENTOS

Diferentes personas e instituciones apoyaron en la colecta de las muestras por ello nuestro agradecimiento. México: a la flota deportiva PISCES, particularmente al Biol. Carlos Narro, al Dr. Guillermo Compeán, al M. en C. Gabriel Aldana, y al personal del Programa de observadores de la Comisión Interamericana del Atún Tropical (sede Mazatlán). Costa Rica: a la Exportadora Frumar S.A. especialmente a la Dra. Diana M. Guerra Muñoz, al Departamento de Investigación del Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura, al Sector Palangrero Nacional, en particular a Mauricio González Director ejecutivo de esta organización, a las M.Sc. Liliana Rendon y Sandra Andraka de EcoPacífico. Ecuador: al Instituto Público de Investigación de Acuicultura y Pesca de Ecuador, en especial al Director Mgs. Juan Javier García Bodniza, y Subdirectora Mgs. María del Pilar Solis Coello y a Carmen Cabanilla. Perú: David Fiestas de la Cooperativa Pesquera Artesanal Jehova, Jehová de Reyes de la Islilla, José Puchulan del Instituto del Mar del Perú, Stefany Rojas, consultora independiente Rosario Escobedo, consultora independiente. Nuestro agradecimiento por todo el apoyo brindado al Comité Regional de Productores y Procesadores de Mahi (COREMAHI)

VII. REFERENCIAS

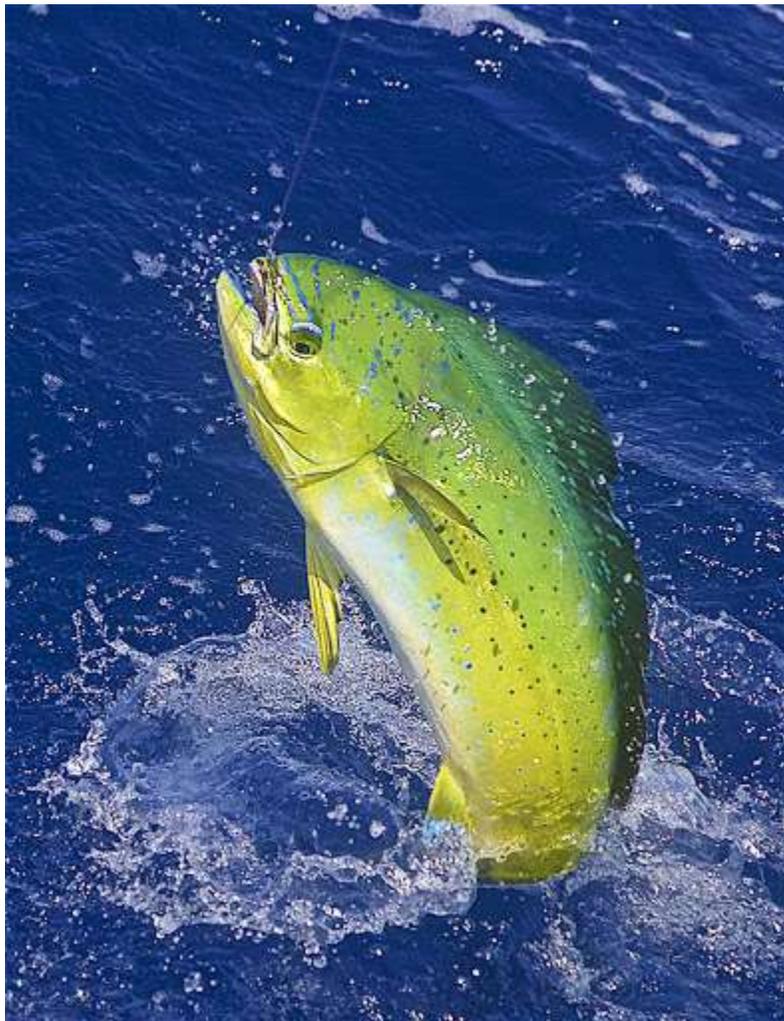
- Aires-da-Silva, A., Lennert-Cody, C.E., Maunder, M.N., Román-Verdesoto, M., Minter-Vera, C., Vogel, N.W., Martínez-Ortiz, J., Carvajal, J.M., Guerrero, P.X., Sondheimer, F. 2014. Preliminary results from IATTC collaborative research activities on dorado in the eastern Pacific Ocean and future research plan. Document SAC-05-11b. Inter-American Tropical Tuna Commission, Scientific Advisory Committee, Fifth Meeting: 1-27
- Alejo-Plata, C., Díaz-Jaimes, P., Salgado-Ugarte, I.H. 2011. Sex ratios, size at sexual maturity, and spawning seasonality of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) captured in the Gulf of Tehuantepec, Mexico. Fisheries Research. 110: 207-216.

- Alvarado-Bremer, J.R., Stequert, B., Robertson, N.W., Ely, B. 1998. Genetic evidence for inter-oceanic subdivision of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) populations. *Mar. Biol.*, 132: 547-557.
- Bayona-Vazquez, N. 2015. Estructura genética del pez dorado (*Coryphaena hippurus*) dentro de su ámbito de distribución mundial. Tesis de doctorado. ICMYL-UNAM.116 p.
- Bayona-Vásquez NJ, Glenn TC, Kieran TJ, Pierson TW, Hoffberg SL, Scott PA, Bentley KE, Finger JW, Louha S, Troendle N, Diaz-Jaimes P, Mauricio R, Faircloth BC. Adapterama III: Quadruple-indexed, double/triple-enzyme RADseq libraries (2RAD/3RAD). *PeerJ*. 2019 Oct 11;7:e7724. doi: 10.7717/peerj.7724. PMID: 31616583; PMCID: PMC6791345.
- Beardsley GL. 1967. Age, growth and reproduction of the dolphin, *Coryphaena hippurus* in the Straits of Florida. *Copeia* 2: 441-451.
- Carreras, C. A. García-Cisneros, O. S. Wangensteen, V, Ordóñez, C. Palacín, M. Pascual, X. Turon. 2019. East is East and West is West: Population genomics and hierarchical analyses reveal genetic structure and adaptation footprints in the keystone species *Paracentrotus lividus* (Echinoidea). *Diversity and Distribution* 00:1-17.
- Catchen, J., A. Amores, P. Hohenlohe, W. Cresko and J. Postlethwait. 2011. *Stacks*: building and genotyping loci *de novo* from short-read sequences *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 1:171-182.
- Chow, S. & H. Ushiyama. 1995. Global population structure of albacores (*Thunnus alalunga*) inferred by RFLP analysis of the mitochondrial ATPase gene. *Mar. Biol.*, 123: 39-45.
- Díaz-Jaimes, P., Uribe-Alcocer, M., Rocha-Olivares, A., García-de-León, F.J., Nortmoon, P., Durand, J.D. 2010. Global phylogeography of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*): The influence of large effective population size and recent dispersal on the divergence of a marine pelagic cosmopolitan species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 57: 1209-1218.
- Ely, B., Viñas, J., Alvarado-Bremer, J., Black, D., Lucas, L., Covello, K., Labrie, A.V., Thelen, E. 2005. Consequences of the historical demography on the global population structure of two highly migratory cosmopolitan marine fishes: the yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and the skipjack tuna (*Katsuwonis pelamis*). *BMC Evol. Biol.*, 5-19.
- Excoffier, L, and Lischer, H.E.L. (2010) Arlequin Suite ver 3.5, a New Series of Programs to Perform Population Genetics Analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>

- Farrell, E. R., A. M. Boustany, P. N. Halpin, D. L. Hammond, 2014. Dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) distribution in relation to biophysical ocean conditions in the northwest Atlantic. *Fish. Res.*, 151: 177-190.
- Foll M, Gaggiotti O. 2008. A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180, 977–993.
- Glenn TC, Pierson TW, Bayona-Vásquez NJ, Kieran TJ, Hoffberg SL, Thomas Iv JC, Lefever DE, Finger JW, Gao B, Bian X, Louha S, Kolli RT, Bentley KE, Rushmore J, Wong K, Shaw TI, Rothrock MJ Jr, McKee AM, Guo TL, Mauricio R, Molina M, Cummings BS, Lash LH, Lu K, Gilbert GS, Hubbell SP, Faircloth BC. Adapterama II: universal amplicon sequencing on Illumina platforms (TaggiMatrix). *PeerJ*. 2019 Oct 11;7:e7786. doi:10.7717/peerj.7786. PMID: 31616589; PMCID: PMC6791344.
- Goudet, J. 2020. hierfstat: Estimation and Tests of Hierarchical F-Statistics. <https://CRAN.R-project.org/package=hierfstat>
- Grant, W.S. & B.W. Bowen. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *The Journal of Heredity*. 89(5): 415-426
- Green, E.D., Guyer, M.S. 2011. Charting a course for genomic medicine from base pairs to bedside. *Nature*. 470(7333):204-13.
- Hemmer-Hansen, Jakob & Therkildsen, Nina & Pujolar, Jose 2014. Population Genomics of Marine Fishes: Next-Generation Prospects and Challenges. *The Biological bulletin*. 227. 117-132. 10.1086/BBLv227n2p117.
- Hosegood, J. et al., 2020. Phylogenomics and species delimitation for effective conservation of manta and devil rays. *Molecular ecology*. 29:4783-4796.
- Jombart T. (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24: 1403-1405. doi: 10.1093/bioinformatics/btn129
- 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. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/11/94>
- Kingsford, M.J. & A. Defries. 1999. The ecology of and fishery for *Coryphaena spp.* in the waters around Australia and New Zealand. *Sci. Mar.*, 63(3-4): 267-275.
- Lander, E.S. 2011. Initial impact of the sequencing of the human genome. *Nature*. 470(7333):187-97.
- Lischer, H. E. & L. Excoffier. 2012. PGDspider: An automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. *Bioinformatic*. 28:298-99. doi: 10.1111/1755-0998.12592

- Luu, K., E. Bazin and M. G. Blum. 2016. *pcadapt*: an R package to perform genome scans for selection based on principal component analysis. *Molecular Ecology Resources*.
- Merten, W., Appeldoorn, R., Hammond, D. 2014a. Movements of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) along the US east coast as determined through mark and recapture data. *Fish. Res.*, 151: 114-121.
- Merten, W., Appeldoorn, R. Rivera, R., Hammond, D. 2014b. Diel vertical movements of adult male dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western central Atlantic as determined by use of pop-up satellite archival transmitters. *Mar. Biol.*, 161(8): 1823-1834.
- Milano, I., Babbucci, M., Cariani, A., Atanassova, M., Bekkevold, D., Carvalho, G. R., Espiñeira, M., Fiorentino, F., Garofalo, G., Geffen, A. J., Hansen, J. H., Helyar, S. J., Nielsen, E. E., Ogden, R., Patarnello, T., Stagioni, M., Tinti, F., & Bargelloni, L. 2014. Outlier SNP markers reveal fine-scale genetic structuring across European hake populations (*Merluccius merluccius*). *Molecular Ecology*, **23**, 118- 135. <https://doi.org/10.1111/mec.12568>
- Oxenford H. 1999. Biology of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western central Atlantic: a review. *Scientia Marina* 63(3-4): 277-301.
- Oxenford H. 1999. Biology of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western central Atlantic: a review. *Scientia Marina* 63(3-4): 277-301.
- Palko, B.J., Beardsley, G.L., Richards, W.J. 1982. Synopsis of the biological data on dolphin-fishes, *Coryphaena hippurus* L. and *Coryphaena equiselis* L. NOAA Tech. Rep. NMFS Circular 443, 28. *Scientific reports* 8:13890. doi:10.1038/s41598-018-32331-3.
- Pecoraro, C., M. Babbucci, R. Franch, C. Rico, C. Papetti, E. Chassot, N. Bodin, A. Cariani, L. Bargelloni and F. Tinti. 2018 The population genomics of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) at global geographic scale challenges current stocks delination.
- Pedraza-Marron, C. del R., et al. 2019. Genomics overrules mitochondrial DNA, siding with morphology on a controversial case of species delimitation. *Proc. R. Soc. B* 286: 20182924. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2018.2924>.
- Privé, F., K.Luu, B. J. Vihjálmsón and G. B. Blum. 2020. Performing highly efficient genome scans for local adaptation with R package pcadapt version 4. *Mol. Biol. Evol.* 37(7):2153-2154.
- Rochette, N., A. Rivera-Colón and J. Catchen. 2019. *Stacks 2*: Analytica methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular Ecology*. 20 (21): 4737-4754.

*PROTOCOLO DE COLECTA Y
ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS PARA EL
PROYECTO GENÉTICO DE IDENTIFICACIÓN
DE ESTRUCTURA DE SOCK(S) DE
PERICO/DORADO (*Coryphaena hippurus*)
EN EL OCEANO PACIFICO ORIENTAL*



CONTENIDO:

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVO.....	1
3. INSTITUCIONES PARTICIPANTES.....	2
4. NÚMERO DE MUESTRAS.....	2
5. LUGAR DE MUESTREO.....	2
6. PERSONAL PARA COLECTAR LAS MUESTRAS.....	3
7. FECHA DE COLECTA.....	3
8. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS.....	3
9. EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	4
10. CONSERVACION DE LAS MUESTRAS EN LABORATORIO (Perú & México).....	5
11. MATERIALES.....	6

1. INTRODUCCIÓN

El perico/dorado es una especie pelágica migratoria, altamente resistente a la pesca debido a su rápido crecimiento y maduración temprana (Alhanzer & Nanninga, 2014). El Océano Pacífico Oriental (OPO) es una de las regiones de perico/dorado más productivas en el mundo (Aires-da-Silva et al., 2016), la cual se extiende desde el norte de Chile hasta el sur de los Estados Unidos. Dentro de la región, la mayor parte de la producción proviene de la pesca artesanal o semi-industrial, por lo que esta especie representa una fuente crucial de medios de vida e ingresos para las comunidades pesqueras, al tiempo que plantea desafíos para su manejo sostenible (Alhanzer & Nanninga, 2014).

Varios esfuerzos se han realizado para mejorar la gestión de la pesca de dorado en el OPO. En cumplimiento su mandato, la Comisión Interamericana del Atún Tropical CIAT ha proporcionado investigaciones y orientaciones de colaboración para llevar a cabo una evaluación exploratoria de las poblaciones en el sur del OPO y una evaluación de posibles puntos de referencia y reglas de control y captura (CIAT, 2018). A nivel nacional, los países pertinentes han adoptado medidas de gestión local, han aplicado planes de acción específicos para la pesca y han elaborado disposiciones jurídicas. Sin embargo, uno de los desafíos que enfrenta la pesquería, es el desconocimiento de la estructura del stock del Perico/Dorado en el Pacífico Oriental.

En este sentido el INP y el IMARPE, en el IV Taller Binacional Sobre la Investigación Biológica -Pesquera del Perico/Dorado, trazaron una hoja de ruta para realizar un estudio genético. De igual manera el proyecto Global Marine Commodities (GMC), el cual es implementado por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo y Sustainable Fisheries Partnership (SFP), ha priorizado trabajar en un estudio genético en Ecuador y Costa Rica (países donde se implementa el proyecto GMC) para reducir la incertidumbres sobre la estructura de stock de esta especie. Debido a que Perú es un actor clave en la pesquería de perico/dorado, SFP invitó al IMARPE a sumarse a participar en este estudio el cual ha sido diseñado por la Dra. Sofía Ortega del CICIMAR y el Dr. Píndaro Díaz de la UNAM. El estudio consiste en coleccionar varias muestras de tejido de perico/dorado, en un tiempo determinado en Costa Rica, Ecuador, Perú y México, para realizar un análisis genético a través de la técnica RadSeq. Ante lo expuesto, los institutos de investigación de pesca de estos países acordaron trabajar en un protocolo de colecta y almacenamiento de muestras para el proyecto genético de identificación de estructura de stock(s) de perico/dorado (*Coryphaena hippurus*) en el oceano pacifico oriental

2. OBJETIVO

- 🌱 Estandarizar un protocolo de colecta de muestras de tejido de perico/dorado (*Coryphaena hippurus*) para llevar a cabo un estudio genético, con el fin de reducir las incertidumbres sobre la estructura del stoc(s) de esta especie en el oceano Pacifico Oriental

3. INSTITUCIONES PARTICIPANTES:

- 🌐 Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura
- 🌐 Instituto Nacional de Pesca de Ecuador
- 🌐 Instituto del Mar del Perú

4. NÚMERO DE MUESTRAS

- ✓ 30 ejemplares de dorado adulto (≥ 80 cm longitud furcal) (primera temporada, diciembre 2019) por localidad
- ✓ 30 ejemplares de dorado juveniles (<40-50 cm) entre más pequeño mejor (segunda temporada, marzo mayo 2020) por localidad

Tratar de coleccionar una proporción de 50% de machos y 50% de hembras de entre 4 y 7 embarcaciones por temporada.

5. LUGAR DE MUESTREO

México:

- ✓ Cabo San Lucas
- ✓ Oaxaca

Ecuador:

- ✓ Santa Rosa

Costa Rica:

- ✓ Puntarenas
- ✓

Perú:

- ✓ Pucusana
- ✓ Paita

6. PERSONAL PARA COLECTAR LAS MUESTRAS

Las muestras serán colectadas por:

IPN:

- ✓ Responsable: Dra. Sofía Ortega-García
- ✓ Técnico de campo: Sofía Ortega-García, Ulianov Jakes-Cota

IMARPE:

- ✓ Responsables: Dra. Ana Alegre y Dra. Giovanna Sotil
- ✓ Técnico de campo: Rodrigo Paiva (Paita) y Amado Che (Pucusana)

INP:

- ✓ Responsable: Blgo. Esteban Elías
- ✓ Técnico de campo: Blgo. Esteban Elías, delegado universidad, conductor INP

INCOPECA:

- ✓ Responsable: Blgo. Jose Miguel Carvajal
- ✓ Técnico de campo: Blgo. Jose Miguel Carvajal

7. FECHAS DE COLECTA:

Colecta de adultos Noviembre 2019 –Enero 2020

Colecta Juveniles durante 2020 debido a la situación de la pandemia (COVID 19)

8. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA

- Comprar las muestras en campo (solicitar factura o recibo) y llenar la bitácora de campo con la mayor información posible (Anexo1).
- Colocar una etiqueta (señal) con un código. Ejemplo de código de muestra: **ChSR 0518-11**; donde las letras y números se refieren a:
 - a. Dos letras relacionadas a las iniciales del nombre científico de la especie colectada (ejm. Ch = *C. hippurus*).

- b. Una letra en mayúscula que indica el lugar de colecta (ejm. SR=Santa Rosa).
 - c. Fecha del muestreo: compuesta por el mes y año (ejm. 0518 = mayo del 2018).
 - d. El número de individuo muestreado (ejm. 11 = individuo décimo primero muestreado en el puerto).
- Colocar las muestras en hieleras y transportar al laboratorio.
 - En el laboratorio limpie el área y los materiales de trabajo (bandeja, tijeras, bisturí y pinzas) con etanol al 96%, y seque con papel toalla. Verifique la ausencia de residuos de papel u otros entre las ranuras del material.
 - Colóquese los guantes, lávese las manos con alcohol y séquese con papel toalla.
 - Asegúrese de tener a la mano el formulario de colecta de datos (Anexo 2) y los tubos ependor o la caja de microtubos para la colecta de tejidos.
 - Tomar la muestra desinfectando el cuchillo o con hoja de bisturí diferente cuando se cambie de organismo.

9. EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS

- Coloque un ejemplar encima de una bandeja limpia.
- Tome la información biométrica y biológica del ejemplar, y llene el formulario correspondiente (Anexo 2).
- Coloque un ejemplar en una zona limpia de una bandeja, y utilizando las pinzas y una hoja de bisturí realice un corte de la parte de la cabeza de aproximadamente 1 cm³ (tamaño de un caramelo) para Ecuador y Costa Rica, y 0.5 cm³ para Perú.



- Para el caso de Ecuador y Costa Rica, con la ayuda de las pinzas, colocar la muestra en un frasco falco de 50 ml con alcohol 96%. Posteriormente colocar en el congelador o en cajas con hielo para el transporte.
- Para el análisis en Perú con la ayuda de las pinzas, coloque el tejido en un criovial que contiene 1 ml de alcohol 96% y cierre bien el criovial.
- Verifique que el tejido se encuentre sumergido completamente en el alcohol. Mantenga aproximadamente 3 veces más el volumen del alcohol respecto al del tejido.
- Limpie el material de disección utilizado con el papel toalla y alcohol al 96%.
- Verifique el rótulo o etiqueta (código correspondiente a la muestra) del criovial (Perú) o del frasco (Ecuador y Costa Rica) en la parte exterior y colóquelo en la caja correspondiente.
- Conserve los crioviales o frascos en refrigeración hasta su transporte al Laboratorio de Genética Molecular – IMARPE o de la UNAM (México)
- Limpie el material de colecta utilizado previo a la toma de la siguiente muestra.

10. Conservación de las muestras en laboratorio (Perú y México)

- En el laboratorio, utilizando papel toalla, limpie el área de trabajo, la bandeja y pinzas con hipoclorito al 10%, seguido de agua y etanol al 96%. Verifique la ausencia de residuos de papel u otros entre las ranuras del material.
- Con ayuda de las pinzas, coloque cada muestra en un criovial nuevo y estéril de 2 ml, conteniendo 1 ml de alcohol al 96%, y mantenga la proporción de 3: 1 (volumen del etanol respecto al volumen del tejido).
- Además, asigne a cada muestra un código de acuerdo a lo establecido en el punto anterior. Ejemplo de código de muestra: **ChSR 0518-11**; donde las letras y números se refieren a:
 - a. Dos letras relacionadas a las iniciales del nombre científico de la especie colectada (ejm. Ch = *C. hippurus*).
 - b. Una letra en mayúscula que indica el lugar de colecta (ejm. SR=Santa Rosa).
 - c. Fecha del muestreo: compuesta por el mes y año (ejm. 0518 = mayo del 2018).
 - d. El número de individuo muestreado (ejm. 11 = individuo décimo primero muestreado en el puerto)
- Coloque las muestras en cajas porta crioviales rotuladas, de la siguiente forma:
 - a. Primera línea: "Tejido"
 - b. Segunda línea: "POP Ch # " - número de caja.
 - c. Tercera línea: mes y año (separados por un guión medio) en el cual se colectaron las muestras. De corresponder a la colecta de dos meses se separarán por un "/".
- Almacene las cajas en el banco de tejidos del laboratorio, a aproximadamente 4 °C, y registre la información en la base de datos digital del laboratorio, considerando:

- Nombre de caja
 - Puerto
 - Fecha de colecta
 - Zona de colecta
 - Ubicación de la caja (en la refrigeradora)
 - Intervalo de muestras
- Los datos proporcionados por el colector y la nueva codificación asignada a cada muestra también se incluyen en la base de datos del laboratorio.
 - Anualmente verifique el estado de conservación de las muestras (ejm. volumen del etanol, tejido, rótulos), y cada tres años realice el recambio de etanol a todas las muestras.

11. MATERIALES:

- Frasco tipo falcon 50 ml ependor con tapa
- Pinzas punta fina.
- Bisturí de acero inoxidable
- Hojas de bisturí.
- Tijeras.
- Guantes de nitrilo o látex.
- Alcohol al 96%.
- Hipoclorito al 10%
- Papel toalla.
- Caja con microtubos o crioviales de 1.5-2.0 ml
- Fuente o bandeja para realizar la disección.
- Formulario de colecta de datos del muestreo biológico.
- Muestras-individuos

ANEXO II

Tabla 1. Cantidad de lecturas totales procesadas y retenidas después de utilizar el modulo “process_radtags”.

Cabo San Lucas (CSL)				
Adultos				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
CSL1	5124868	8370	5826	5110672
CSL2	6245230	22990	7745	6214495
CSL3	5084784	9320	3562	5071902
CSL4	4502942	7907	4736	4490299
CSL5	6375330	23172	7153	6345005
CSL6	5361006	19289	6508	5335209
CSL7	5676244	28413	7009	5640822
CSL8	5104074	14803	5985	5083286
CSL9	4572686	8742	3711	4560233
CSL10	6785378	10073	7905	6767400
CSL11	7406740	12216	8729	7385795
CSL12	3968526	12886	5180	3950460
CSL13	4737058	7859	5469	4723730
CSL14	7437290	14139	8289	7414862
CSL15	3996874	11276	5215	3980383
CSL16	5896094	6738	6731	5882625
CSL17	6388846	7806	7481	6373559
CSL18	3395026	10694	4184	3380148
CSL19	3295116	16811	3924	3274381
CSL20	7745612	16005	9483	7720124
CSL21	8237478	19483	9888	8208107
CSL22	4061292	6730	2840	4051722
CSL23	6718490	15682	7432	6695376
CSL24	6327164	9038	7350	6310776
CSL25	3888658	6254	5124	3877280
CSL26	4766104	12037	5704	4748363
CSL27	4493118	17196	5410	4470512
CSL28	7099936	18397	10550	7070989
CSL29	3337040	9158	3981	3323901
CSL30	4155498	6894	4178	4144426
Juveniles				

Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
CSLJ1	3031156	8799	3325	3019032
CSLJ2	5389096	20427	6608	5362061
CSLJ3	7277780	8983	9582	7259215
CSLJ4	3771162	15227	4934	3751001
CSLJ5	6141430	11857	7532	6122041
CSLJ6	6162584	27759	7208	6127617
CSLJ7	2374238	4839	1258	2368141
CSLJ8	3774162	6403	4495	3763264
CSLJ9	3945858	8392	4791	3932675
CSLJ10	5350372	18015	6123	5326234
CSLJ11	5372726	11005	7351	5354370
CSLJ12	4648562	9557	3062	4635943
CSLJ13	4680844	22686	6639	4651519
CSLJ14	4865200	9249	5150	4850801
CSLJ15	6696692	39677	8475	6648540
CSLJ16	5903686	21456	6741	5875489
CSLJ17	6850558	19448	8719	6822391
CSLJ18	5968250	16401	6905	5944944
CSLJ19	10700726	20237	13827	10666662
CSLJ20	6932084	24808	8733	6898543

Oceanicas (OC)

Adultos

Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
Oce18	6397198	15844	7220	6374134
Oce19	6375990	14654	7554	6353782
Oce20	7399746	25289	4999	7369458
Oce21	7122474	29972	8339	7084163
Oce22	6272802	27222	7023	6238557
Oce23	5970768	11907	7132	5951729
Oce24	8545274	29787	10527	8504960
Oce26	8034218	32847	8452	7992919
Oce27	9670214	29908	13235	9627071
Oce28	6876330	10405	8600	6857325

Juveniles

Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
Oce1	9231694	16820	10268	9204606
Oce2	23391300	31192	29474	23330634
Oce3	8690092	12457	10959	8666676

Oce4	7800210	23260	9792	7767158
Oce5	6164494	25744	8392	6130358
Oce6	6856490	25780	8872	6821838
Oce7	8828976	24868	10825	8793283
Oce8	3255240	5578	2999	3246663
Oce9	6163198	28359	6419	6128420
Oce10	7307120	22596	9099	7275425
Oce11	5814096	12843	7158	5794095
Oce12	6471290	17836	8411	6445043
Oce13	6413358	22153	7101	6384104
Oce14	5568100	10296	6497	5551307
Oce15	137130	2622	386	134122
Oce16	6274802	13903	7331	6253568
Oce17	4701256	12516	5442	4683298
Oce25	8033404	34740	9114	7989550
Oce29	8146046	19504	10428	8116114
Oce30	4809716	31371	5540	4772805

Bahía Banderas (BB)

Juveniles				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
BaB1	7795172	23614	8576	7762982
BaB2	10382940	478116	12615	9892209
BaB3	9557844	428717	11546	9117581
BaB4	9292746	369815	12454	8910477
BaB5	7229388	158456	8269	7062663
BaB6	7484282	147046	9255	7327981
BaB7	8332564	266182	11001	8055381
BaB8	7260690	133687	9316	7117687
BaB9	7739952	226704	9837	7503411
BaB10	6316774	172584	7363	6136827
BaB11	11225242	280423	14114	10930705
BaB12	2339694	5891	3108	2330695
BaB13	4696018	9443	5415	4681160
BaB14	6880912	333663	8357	6538892
BaB15	7067914	195158	8592	6864164
BaB16	6574264	181435	8232	6384597
BaB17	7568886	101814	9237	7457835
BaB18	7700848	369632	8449	7322767
BaB19	6064232	288062	8530	5767640
BaB20	5652750	131646	6319	5514785

BaB21 5812762 134144 7234 5671384

Puerto Angel Oaxaca (PAO)

Adultos				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
PA1	2914886	11975	1774	2901137
PA2	3829658	12335	4448	3812875
PA3	5922822	12436	6827	5903559
PA4	4566330	35826	5366	4525138
PA5	2577900	9642	2775	2565483
PA6	4470130	21187	5754	4443189
PA7	3854072	12352	4310	3837410
PA8	5523626	18748	6376	5498502
PA9	8740880	9445	10851	8720584
PA10	4606164	5310	5205	4595649
PA11	4358896	19910	5199	4333787
PA12	4671602	22466	5348	4643788
PA13	3430336	11387	3974	3414975
PA14	5089278	18024	6027	5065227
PA15	4426022	26763	5468	4393791
PA16	5843054	33863	6847	5802344
PA17	4316630	11364	6044	4299222
PA18	4273976	29422	5305	4239249
PA19	4949240	18147	6625	4924468
PA20	4052182	3945	2836	4045401
PA21	4515734	11721	5211	4498802
PA22	6262438	15528	7365	6239545
PA23	4273162	14607	5337	4253218
PA24	3994778	13604	4258	3976916
PA25	6082856	12161	6990	6063705
PA26	7870684	17723	9412	7843549

Puntarenas (PUN)

Adultos				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
CR1	6833088	23008	9886	6800194
CR2	4166938	46781	4618	4115539
CR3	5336066	15231	5660	5315175
CR4	6040712	9804	6649	6024259
CR5	5723604	9490	4767	5709347
CR6	3838030	40527	4184	3793319
CR7	5507040	13696	6296	5487048

CR8	3730144	116259	4073	3609812
CR9	2469878	17459	1403	2451016
CR10	2892080	69454	1693	2820933
CR11	8753684	41998	11847	8699839
CR12	5469028	32134	5775	5431119
CR13	2977118	17686	2552	2956880
CR14	5015338	9381	5536	5000421
CR15	8404920	33596	11216	8360108
CR16	9315234	38637	10003	9266594
CR17	4974134	21035	4645	4948454
CR18	12073542	41357	13295	12018890
CR19	7233780	16175	9369	7208236
CR20	5483774	9446	7061	5467267
CR26	4624700	102009	5168	4517523
CR27	5913620	75005	8907	5829708
CR28	6426826	13469	6845	6406512
CR29	5062284	8147	6189	5047948
CR30	7422068	19814	11302	7390952
CR31	6552806	26653	7887	6518266
CR32	3877970	25087	4435	3848448
CR33	5558780	15432	6052	5537296
CR39	5021698	19946	6226	4995526
CR40	5017234	18189	5696	4993349

Juveniles

Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
CRJ1	6821532	394778	7621	6419133
CRJ2	7853788	69415	8794	7775579
CRJ3	8830750	187432	10043	8633275
CRJ4	6363614	39677	7575	6316362
CRJ5	8965894	13885	10646	8941363
CRJ6	4140388	4867	4611	4130910
CRJ7	9427316	10445	10489	9406382
CRJ8	7297832	84155	10327	7203350
CRJ9	8280950	99210	10374	8171366
CRJ10	8265442	116810	9897	8138735
CRJ11	7081986	37161	8439	7036386
CRJ12	11731602	163294	13950	11554358
CRJ13	6043742	51703	8193	5983846
CRJ14	6673734	71977	8510	6593247
CRJ15	9216180	100233	11747	9104200

CRJ16	6705026	58057	8457	6638512
CRJ17	9176642	121445	11411	9043786
CRJ18	4798372	6090	5517	4786765

Ecuador (ECU)

Adultos				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
Ecu1	4951904	5709	5298	4940897
Ecu2	6345960	13077	7160	6325723
Ecu3	5115906	10237	5556	5100113
Ecu4	6525768	8127	7240	6510401
Ecu5	6398312	12563	7190	6378559
Ecu6	5170522	8239	5502	5156781
Ecu7	5494536	6381	5833	5482322
Ecu8	8469810	20433	9416	8439961
Ecu9	5241596	9455	5713	5226428
Ecu10	5080824	9474	5665	5065685
Ecu11	8298188	15910	9678	8272600
Ecu12	3122860	5202	3458	3114200
Ecu13	3904086	4253	4335	3895498
Ecu14	6610352	30883	8881	6570588
Ecu15	5790222	14904	6836	5768482
Ecu16	6463740	13498	7472	6442770
Ecu17	5337650	12157	6217	5319276
Ecu18	2313532	48991	4760	2259781
Ecu19	5816064	26211	7254	5782599
Ecu20	5856898	13129	7321	5836448
Ecu21	5688240	9746	6706	5671788
Ecu22	5185000	9753	6364	5168883
Ecu23	7474254	13352	9199	7451703
Ecu24	8142394	9292	9431	8123671
Ecu25	5305946	5776	6154	5294016
Ecu26	4621646	10458	5366	4605822
Ecu27	4143178	12991	4882	4125305
Ecu28	5028064	13686	6003	5008375
Ecu29	5447510	11626	6327	5429557
Ecu30	5236914	16108	6123	5214683
Juveniles				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
Ecu31	4240102	12962	5035	4222105
Ecu32	5208992	26754	6199	5176039

Ecu33	7929778	15420	9050	7905308
Ecu34	3778400	8961	4496	3764943
Ecu35	4348320	8109	5256	4334955
Ecu36	3874546	8144	4634	3861768
Ecu37	7686232	9163	8908	7668161
Ecu38	5763336	13118	6791	5743427
Ecu39	4221656	8363	4824	4208469
Ecu40	5079366	8782	5890	5064694
Ecu41	5965312	15191	6881	5943240
Ecu42	5649190	13822	6242	5629126
Ecu43	4971798	10085	5764	4955949
Ecu44	3679650	11643	4226	3663781
Ecu45	5926128	11800	7129	5907199
Ecu46	5208962	13867	6334	5188761
Ecu47	5537784	26112	6409	5505263
Ecu48	4204930	8830	4830	4191270
Ecu49	3155854	3635	3450	3148769
Ecu50	6283024	80804	7397	6194823
Ecu51	6258798	51210	6821	6200767
Ecu52	8105158	161106	9938	7934114
Ecu53	7607430	59454	9058	7538918
Ecu54	5581016	121169	6158	5453689

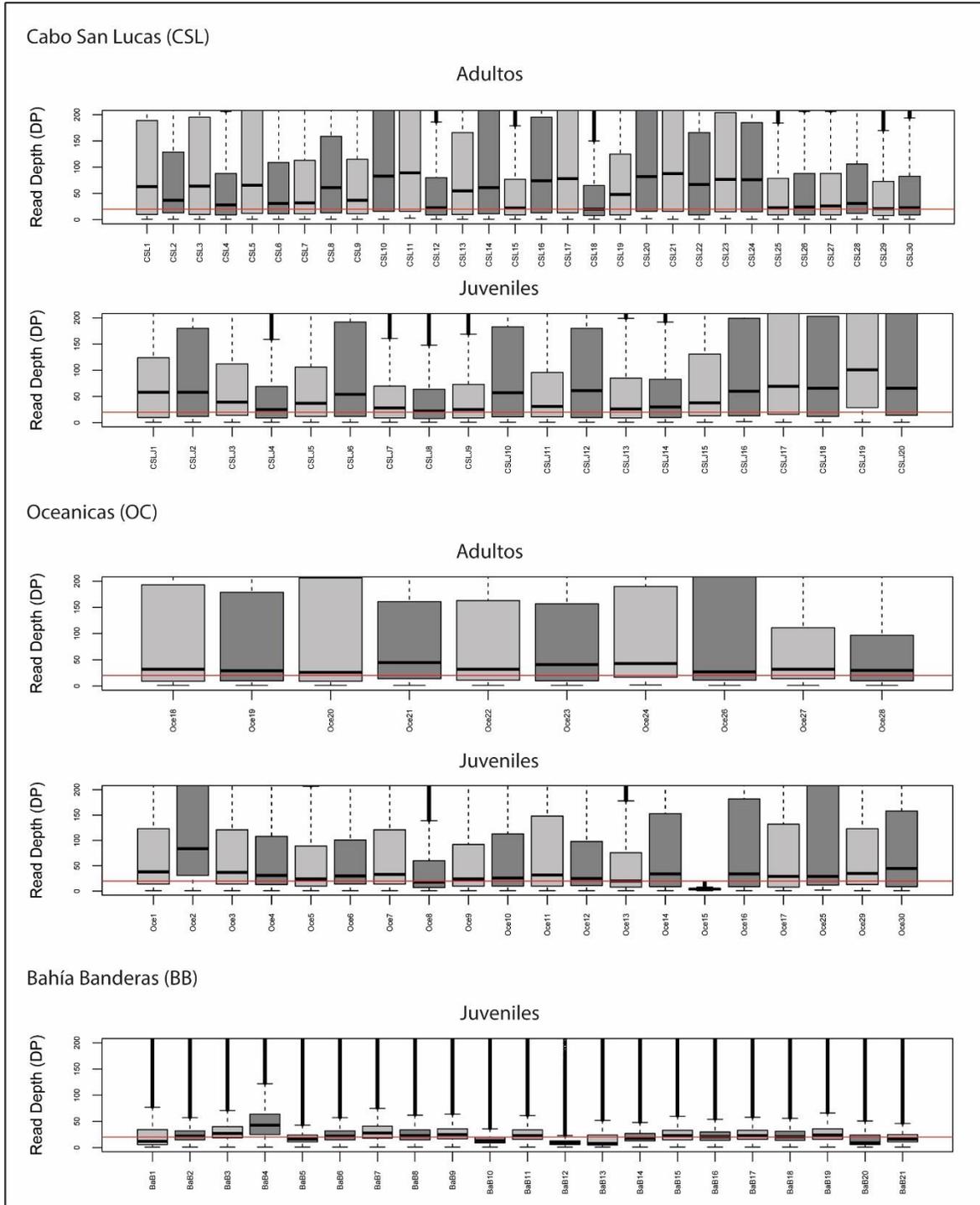
Paita (PA)

Adultos				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
N4	5560102	32102	5072	5522928
N5	5013990	159286	6757	4847947
N6	8497450	173712	9987	8313751
N7	2816978	83744	2782	2730452
N8	2101830	11336	1163	2089331
N9	5359172	155947	6407	5196818
N10	5410174	344425	6401	5059348
N11	5505116	189070	6580	5309466
N12	3365640	46323	3843	3315474
N13	3572838	16875	4302	3551661
N14	3985826	23020	5211	3957595
N15	6975110	107623	7984	6859503
N16	7030476	100985	10466	6919025
N17	7546890	185280	9795	7351815
N18	5808354	127686	6265	5674403

Juveniles				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
N20	1834638	13629	876	1820133
N21	4776656	31764	3163	4741729
N22	6037356	45758	6714	5984884
N23	7527848	52181	9054	7466613
N24	6433200	41252	7254	6384694
N25	7263812	26975	8616	7228221
N26	5377548	70322	6080	5301146
N27	6217382	87232	6878	6123272
Pucusana (PUC)				
Adultos				
Muestras	Lecturas totales	No. RadTag	Baja calidad	Lecturas retenidas
C6	6074124	13463	7278	6053383
C9	4708418	13070	5611	4689737
C10	5779166	14861	6470	5757835
C11	3457178	6287	3979	3446912
C12	3507980	6849	4120	3497011
C13	4698612	18973	5748	4673891
C14	5226402	11710	6166	5208526
C17	5063794	16418	6144	5041232
C18	3166114	11377	3368	3151369
C20	3777662	17607	5162	3754893
C21	4801540	17653	5821	4778066
C22	3337400	11294	3938	3322168
C23	4185916	6858	2905	4176153
C24	4311514	14579	4976	4291959
C25	4821084	15066	5541	4800477
C26	5160138	11776	6410	5141952
C28	4488612	36392	5561	4446659
C29	4805990	19693	5968	4780329
C31	4621230	14241	4987	4602002
C32	6225180	33741	9307	6182132

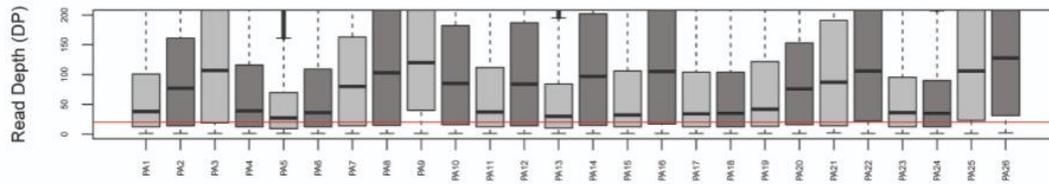
ANEXO III.

Figura 1. Cobertura de cada individuo secuenciado, la línea roja indica el valor óptimo de 20X.



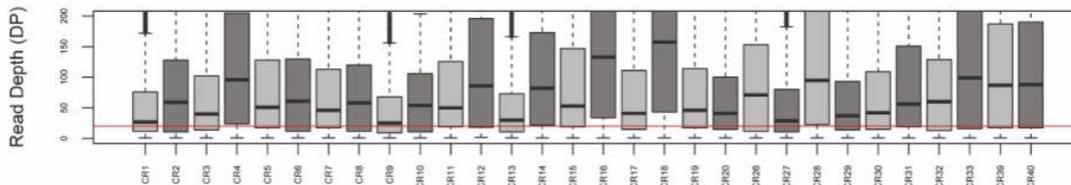
Puerto Angel Oaxaca (PAO)

Adultos

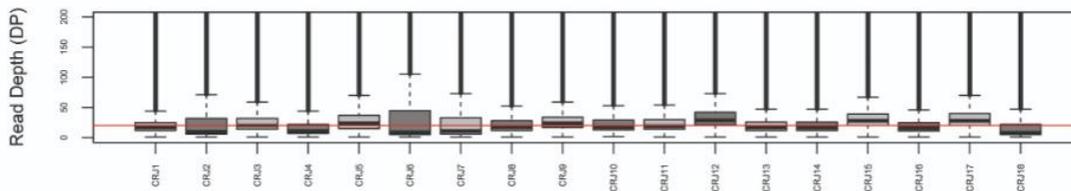


Puntarenas (PUN)

Adultos

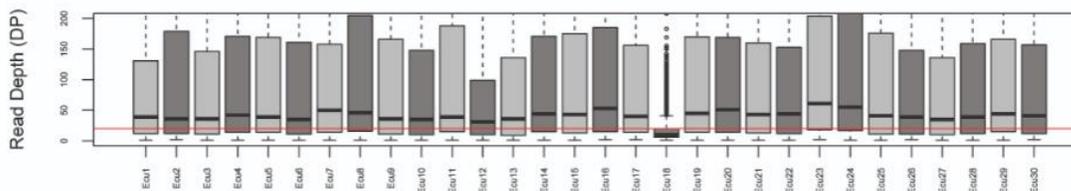


Juveniles

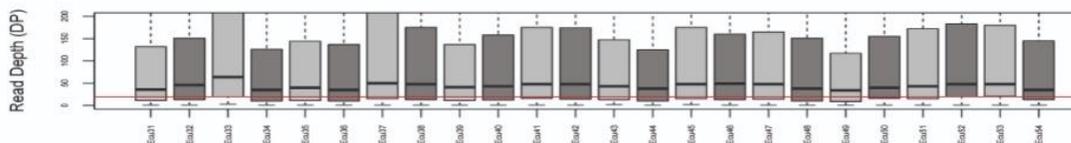


Santa Rosa (SR)

Adultos

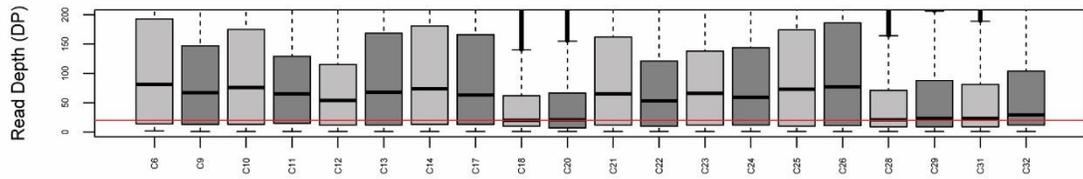


Juveniles



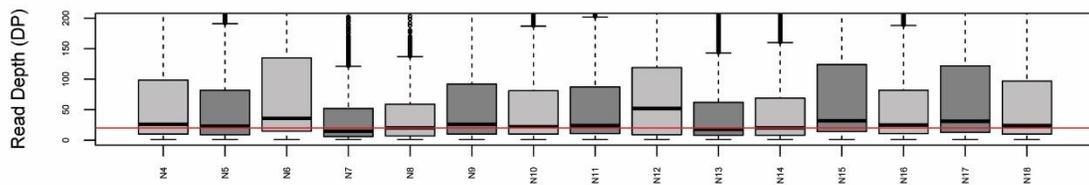
Pucusana (PUC)

Adultos

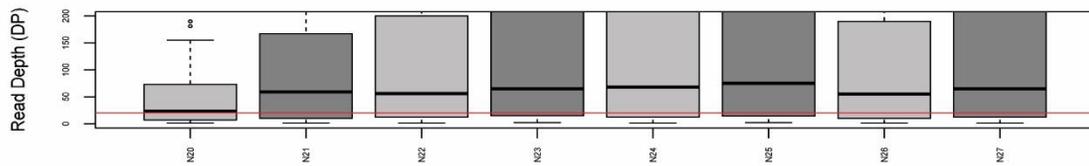


Paita (PA)

Adultos



Juveniles



ANEXO IV.

Tabla 1. Locus polimórficos obtenidos después de evaluar m2 y m3 y variando de 1 a 10 el valor de M, en negritas se resaltan la mayor cantidad de locus polimórficos, r80, representa la regla de mantener los locus que se recuperen en el 80% de los individuos de una población.

	M = 2	M = 3	M = 4	M = 5	M = 6	M = 7	M = 8	M = 9	M = 10
	Locus polimórficos								
m2_r80	20500	20354	20239	20093	19949	19799	19609	19359	19179
	Locus polimórficos	Locus polimórficas	Locus polimórficos	Locus polimórficas	Locus polimórficos	Locus polimórficas	Locus polimórficas	Locus polimórficos	Locus polimórficos
m3_r80	21025	20875	20659	20340	20220	19757	19742	19041	18738

Tabla 2. Valores de locus totales y polimórficos obtenidos variando el valor de n, en negritas se resaltan los valores que fueron seleccionados

M2-m3											
	n = 0	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	n = 8	n = 9	n = 10
Locus	22305	26333	27613	28398	28794	28926	29009	29027	29050	29021	29033
Locus polimórficos	21025	25101	26370	27111	27485	27616	27686	27722	27745	27693	27724
Número de SNPs	181283	246581	268416	278626	282033	284200	285047	285271	285743	285795	285809

M2-m2											
	n = 0	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	n = 8	n = 9	n = 10
Locus	21755	26042	27408	28015	28422	28470	28570	28571	28554	28604	28539
Locus polimórficos	20500	24933	26292	26849	27258	27313	27403	27410	27387	27442	27356
Número de SNPs	172142	245847	270957	279950	284257	286299	287777	288208	288131	288721	287958

ANEXO V.

Análisis de varianza molecular (AMOVA) incluyendo 1) todos los individuos de *Coryphaena hippurus* (272 individuos) utilizando un filtro de missing data de 50% y eliminando alelos con frecuencias menores a 0.05. 2) separando los individuos de *C. hippurus* por sexo filtrando un SNP por locus al azar. Además, se presentan los valores pareados de F_{ST} y DAPC.

1) Utilizando un filtro de missing data de 50% y eliminando alelos con frecuencias menores a 0.05

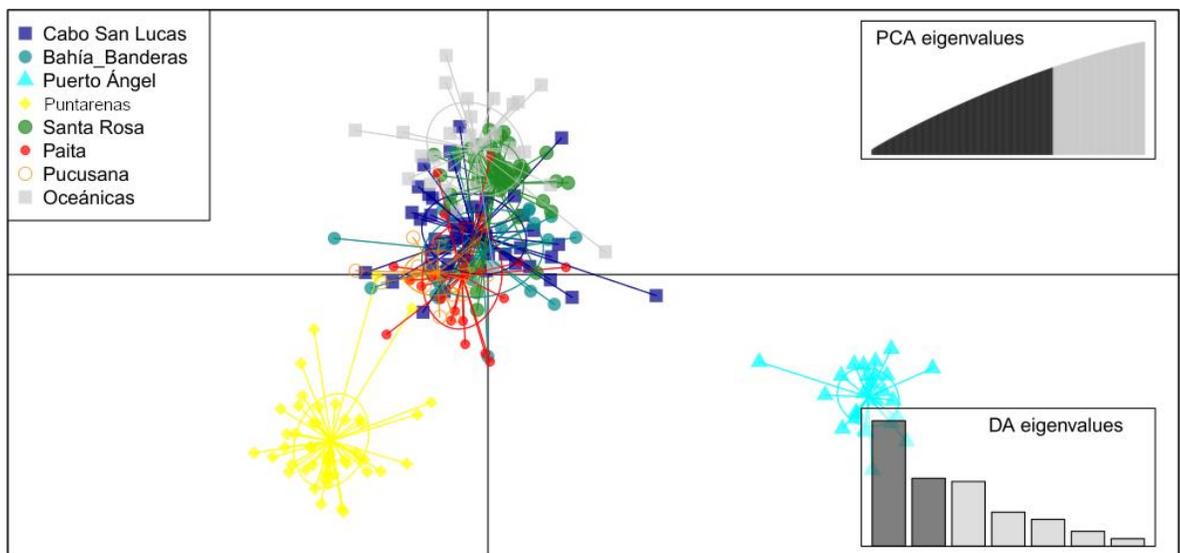


Figura 1A. Análisis de DAPC incluyendo los 272 individuos secuenciados de *Coryphaena hippurus* aplicando un filtro de 50% de missing data y descartando los alelos con frecuencias alélicas menores a 0.05%.

Tabla 1A. Análisis de varianza molecular (AMOVA) incluyendo los 272 individuos secuenciados de *Coryphaena hippurus* aplicando un filtro de 50% de missing data y descartando los alelos con frecuencias alélicas menores a 0.05%.

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
Entre grupos	0.02676	FCT = 0.00027	0.01851
Entre poblaciones dentro de grupos	0.26462	FSC = 0.00265	0.00000
Dentro de poblaciones	99.70862	FST = 0.00291	0.00000

Hipótesis de agrupación: Grupo 1: Oceánicas; Grupo 2: Cabo San Lucas; Grupo 3: Paíta y Pucusana; Grupo 4: Santa Rosa, Puntarenas, Puerto Ángel, y Bahía Banderas.

Tabla 2A. Valores pareados de F_{ST} entre localidades de 272 individuos secuenciados de *Coryphaena hippurus* aplicando un filtro de 50% de missing data y descartando los alelos con frecuencias alélicas menores a 0.05%

	CSL	OC	PA	PUC	SR	PUN	PAO	BB
CSL	0							
OC	-0.017	0						
PA	-0.142	-0.154	0					
PUC	-0.089	-0.095	-0.121	0				
SR	-0.011	-0.020	-0.147	-0.086	0			
PUN	-0.022	-0.0312	-0.164	-0.1020	-0.020	0		
PAO	-0.025	-0.0351	-0.1571	-0.106	-0.026	-0.039	0	
BB	-0.041	-0.053	-0.200	-0.123	-0.035	-0.047	-0.060	0

Ninguna comparación resultó $p < 0.05$

2) Separando los individuos de *C. hippurus* por sexo filtrando un SNP por locus al azar

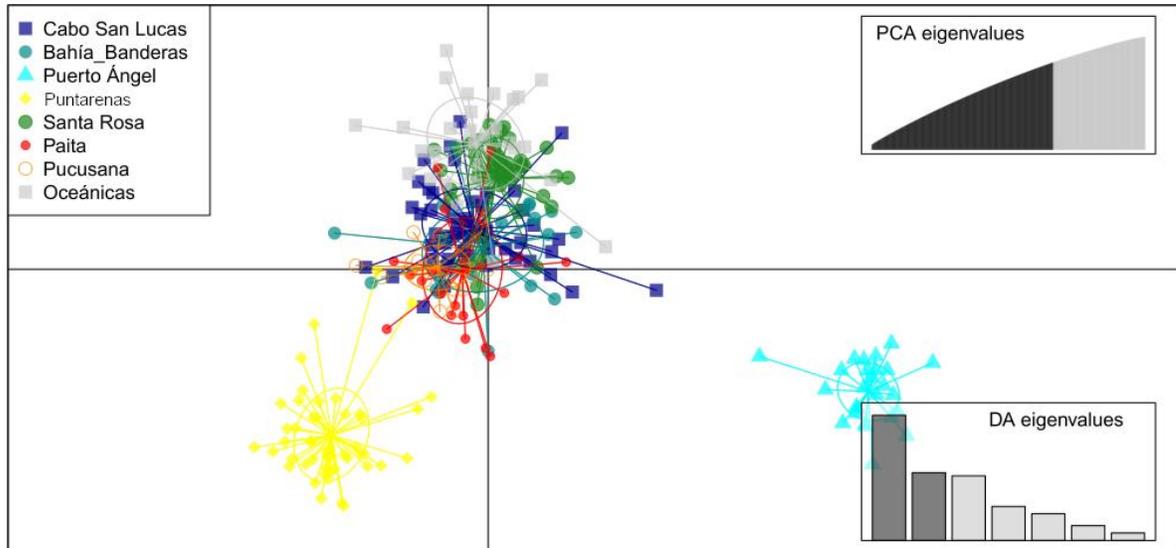


Figura 2A. Análisis de DAPC incluyendo individuos macho de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

Tabla 3A. Análisis de varianza molecular (AMOVA) incluyendo individuos macho de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
Entre grupos	0.03535	$F_{CT} = 0.00035$	0.40
Entre poblaciones dentro de grupos	0.29617	$F_{SC} = 0.00296$	0.51
Dentro de poblaciones	99.66849	$F_{ST} = 0.00332$	0.50

Hipótesis de agrupación: Grupo 1: Oceánicas; Grupo 2: Cabo San Lucas; Grupo 3: Bahía Banderas; Puerto Ángel; Puntarenas; y Santa Rosa; Grupo 4: Paita y Pucusana.

Tabla 4A. Valores pareados de F_{ST} entre localidades, incluyendo individuos macho de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

	CSL	OC	PA	PUC	SR	PUN	PAO	BB
CSL	0							
OC	-0.0127	0						
PA	-0.149	-0.169	0					
PUC	-0.101	-0.1135	-0.092	0				
SR	-0.009	-0.0174	-0.151	-0.110	0			
PUN	-0.027	-0.035	-0.164	-0.1263	-0.036	0		
PAO	-0.019	-0.034	-0.178	-0.1124	-0.021	-0.045	0	
BB	-0.065	-0.083	-0.193	-0.140	-0.065	-0.1025	-0.079	0

Ninguna comparación resultó $p < 0.05$

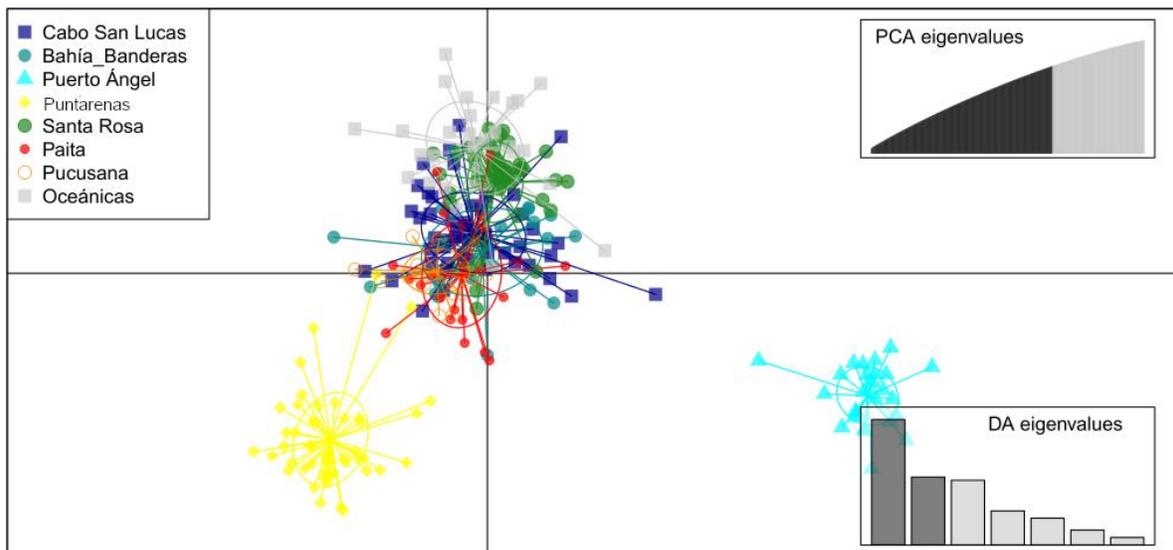


Figura 3A. Análisis de DAPC incluyendo a individuos hembras de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

Tabla 5A. Análisis de varianza molecular (AMOVA) incluyendo individuos hembras de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
Entre grupos	0.12030	FCT = 0.0012	0.02
Entre poblaciones dentro de grupos	0.28959	FSC = 0.00290	0.03
Dentro de poblaciones	99.59011	FST = 0.00410	0.00

Hipótesis de agrupación: Grupo 1: Oceánicas; Grupo 2: Cabo San Lucas; Grupo 3: Bahía Banderas; Puerto Ángel; Puntarenas; y Santa Rosa; Grupo 4: Paita y Pucusana.

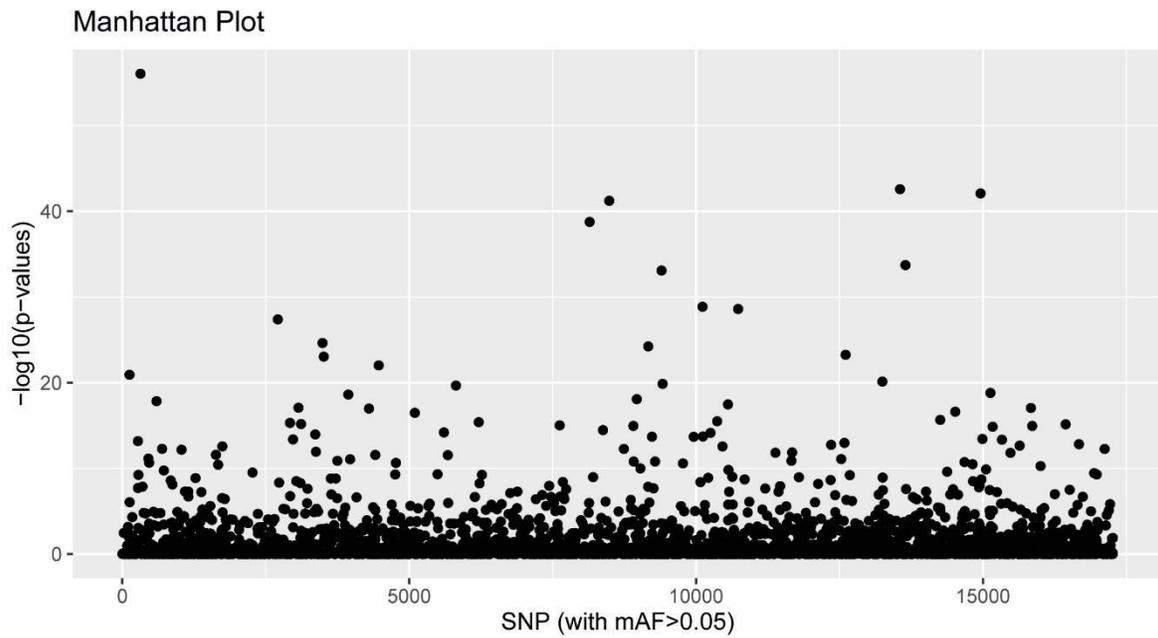
Tabla 6A. Valores pareados de F_{ST} entre localidades incluyendo individuos hembras de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

	CSL	OC	PA	PUC	SR	PUN	PAO	BB
CSL	0							
OC	-0.0123	0						
PA	-0.1012	-0.092	0					
PUC	-0.051	-0.042	-0.075	0				
SR	-0.0122	-0.009	-0.092	-0.050	0			
PUN	-0.021	-0.025	-0.121	-0.064	-0.021	0		
PAO	-0.016	-0.022	-0.100	-0.053	-0.020	-0.033	0	
BB	-0.050	-0.059	-0.145	-0.100	-0.046	-0.045	-0.065	0

Ninguna comparación resultó $p < 0.05$

ANEXO VI.

a)



b)

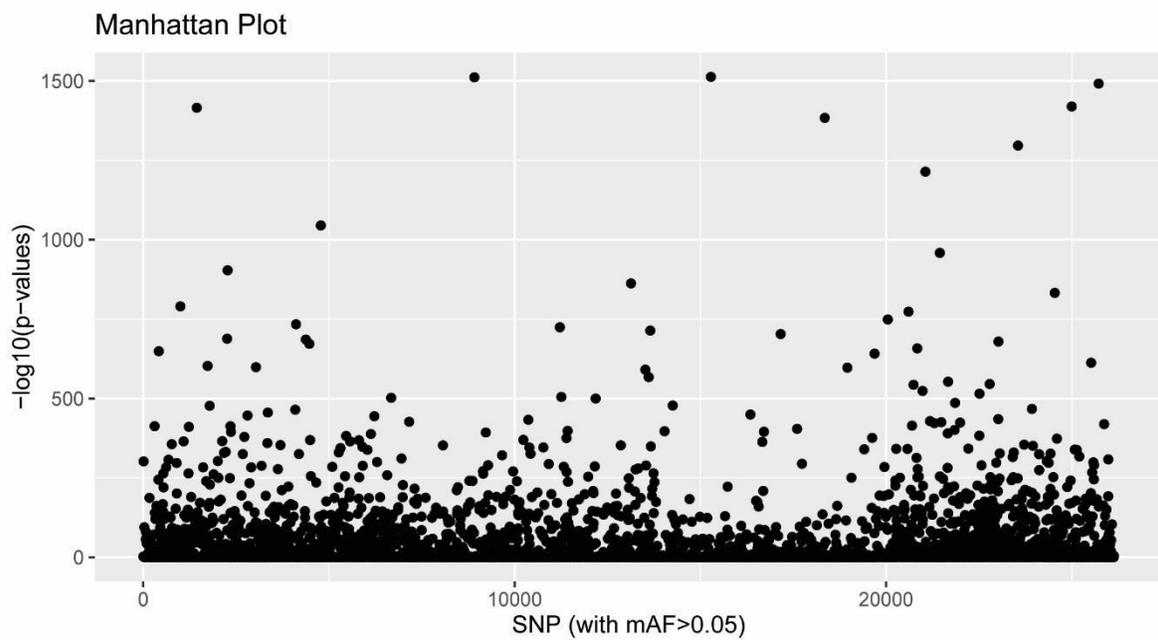


Fig. 1A. Gráficas de distancias de mahalanobis, a) outliers detectados para los individuos adultos, b) outliers detectados para los individuos juveniles.

Tabla 1A. Número y posición de los SNP considerados como outliers de los individuos adultos

No. Outliers	Posición
1	126
2	128
3	273
4	274
5	282
6	317
7	353
8	373
9	409
10	455
11	469
12	544
13	590
14	597
15	665
16	694
17	725
18	844
19	874
20	960
21	1033
22	1093
23	1151
24	1152
25	1277
26	1378
27	1397
28	1439
29	1478
30	1505
31	1535
32	1632
33	1671
34	1740
35	1744
36	1748
37	1786
38	2270
39	2364

40	2711
41	2734
42	2810
43	2840
44	2924
45	2926
46	2976
47	2985
48	3033
49	3071
50	3105
51	3116
52	3188
53	3221
54	3229
55	3342
56	3364
57	3376
58	3386
59	3412
60	3490
61	3512
62	3636
63	3645
64	3672
65	3721
66	3745
67	3749
68	3857
69	3887
70	3940
71	3971
72	4083
73	4300
74	4372
75	4410
76	4412
77	4470
78	4696
79	4739
80	4757

81	4769
82	5022
83	5099
84	5156
85	5336
86	5357
87	5495
88	5606
89	5674
90	5680
91	5816
92	6112
93	6145
94	6213
95	6227
96	6268
97	6337
98	6434
99	6468
100	6532
101	6612
102	6734
103	6762
104	6804
105	6880
106	6887
107	7209
108	7319
109	7388
110	7441
111	7474
112	7523
113	7548
114	7623
115	7636
116	7649
117	7679
118	7688
119	7704
120	7737
121	8129

122	8137
123	8146
124	8206
125	8378
126	8423
127	8487
128	8650
129	8742
130	8863
131	8867
132	8907
133	8914
134	8915
135	8967
136	9027
137	9030
138	9084
139	9116
140	9165
141	9167
142	9187
143	9232
144	9260
145	9286
146	9399
147	9417
148	9737
149	9772
150	9794
151	9960
152	9983
153	10077
154	10113
155	10120
156	10140
157	10155
158	10212
159	10252
160	10368
161	10461
162	10557

163	10561
164	10565
165	10577
166	10632
167	10639
168	10734
169	10847
170	10900
171	10929
172	11156
173	11206
174	11384
175	11438
176	11465
177	11466
178	11573
179	11662
180	11675
181	11793
182	11915
183	12074
184	12128
185	12345
186	12354
187	12425
188	12426
189	12530
190	12586
191	12607
192	12620
193	12680
194	12719
195	13125
196	13184
197	13187
198	13189
199	13248
200	13253
201	13256
202	13267
203	13283

204	13555
205	13650
206	13661
207	13782
208	13819
209	13848
210	13889
211	13922
212	14009
213	14012
214	14023
215	14046
216	14215
217	14255
218	14256
219	14260
220	14377
221	14432
222	14480
223	14518
224	14567
225	14649
226	14680
227	14684
228	14819
229	14828
230	14857
231	14930
232	14940
233	14945
234	14959
235	14974
236	14992
237	15055
238	15115
239	15119
240	15126
241	15131
242	15170
243	15174
244	15244

245	15317
246	15332
247	15423
248	15480
249	15520
250	15640
251	15657
252	15755
253	15837
254	15859
255	16005
256	16019
257	16068
258	16253
259	16442
260	16512
261	16575
262	16650
263	16674
264	16741
265	16883
266	16938
267	16983
268	17121
269	17159
270	17195
271	17216

Tabla 2A. Número y posición de los SNP considerados como outliers de los individuos juveniles

No. outliers	Posición
1	11
2	30
3	68
4	70
5	93
6	103
7	125
8	134
9	169
10	170
11	173

12	193
13	196
14	206
15	219
16	224
17	272
18	276
19	307
20	313
21	323
22	326
23	335
24	357
25	380
26	386
27	409
28	420
29	435
30	437
31	438
32	439
33	458
34	476
35	477
36	483
37	488
38	489
39	528
40	533
41	534
42	539
43	542
44	545
45	547
46	553
47	554
48	561
49	570
50	582
51	585
52	606

53	615
54	617
55	618
56	622
57	632
58	658
59	664
60	681
61	722
62	736
63	748
64	749
65	756
66	764
67	766
68	768
69	769
70	778
71	779
72	823
73	845
74	875
75	899
76	904
77	906
78	911
79	922
80	956
81	958
82	979
83	985
84	992
85	1000
86	1022
87	1077
88	1082
89	1088
90	1108
91	1112
92	1125
93	1129

94	1130
95	1136
96	1142
97	1148
98	1160
99	1204
100	1219
101	1229
102	1261
103	1275
104	1289
105	1291
106	1294
107	1298
108	1343
109	1345
110	1354
111	1361
112	1367
113	1380
114	1382
115	1396
116	1418
117	1442
118	1466
119	1524
120	1529
121	1530
122	1550
123	1570
124	1576
125	1581
126	1596
127	1614
128	1627
129	1631
130	1633
131	1644
132	1651
133	1673
134	1679

135	1686
136	1694
137	1696
138	1701
139	1706
140	1734
141	1740
142	1747
143	1764
144	1775
145	1787
146	1789
147	1796
148	1816
149	1847
150	1866
151	1883
152	1889
153	1896
154	1905
155	1918
156	1936
157	1963
158	1971
159	1976
160	2008
161	2022
162	2023
163	2030
164	2035
165	2048
166	2049
167	2077
168	2081
169	2086
170	2109
171	2128
172	2136
173	2160
174	2176
175	2194

176	2222
177	2225
178	2258
179	2261
180	2262
181	2267
182	2272
183	2304
184	2334
185	2346
186	2349
187	2350
188	2361
189	2377
190	2409
191	2434
192	2441
193	2451
194	2461
195	2482
196	2497
197	2510
198	2531
199	2554
200	2567
201	2570
202	2617
203	2645
204	2659
205	2681
206	2687
207	2722
208	2724
209	2764
210	2795
211	2808
212	2818
213	2862
214	2876
215	2894
216	2902

217	2906
218	2924
219	2926
220	2932
221	2946
222	2986
223	2998
224	3000
225	3029
226	3035
227	3072
228	3086
229	3116
230	3173
231	3186
232	3195
233	3234
234	3239
235	3246
236	3257
237	3284
238	3293
239	3296
240	3299
241	3303
242	3307
243	3325
244	3328
245	3342
246	3343
247	3355
248	3373
249	3405
250	3431
251	3447
252	3453
253	3462
254	3465
255	3480
256	3490
257	3523

258	3535
259	3541
260	3572
261	3577
262	3603
263	3622
264	3626
265	3627
266	3628
267	3636
268	3648
269	3661
270	3665
271	3689
272	3695
273	3707
274	3731
275	3760
276	3766
277	3769
278	3788
279	3798
280	3809
281	3824
282	3827
283	3838
284	3854
285	3862
286	3885
287	3891
288	3895
289	3908
290	3914
291	3918
292	3929
293	3937
294	3940
295	3965
296	3971
297	4040
298	4053

299	4065
300	4093
301	4115
302	4121
303	4175
304	4182
305	4185
306	4186
307	4193
308	4203
309	4249
310	4264
311	4275
312	4304
313	4339
314	4353
315	4357
316	4379
317	4420
318	4425
319	4459
320	4472
321	4474
322	4491
323	4494
324	4508
325	4514
326	4518
327	4571
328	4578
329	4635
330	4644
331	4645
332	4657
333	4697
334	4710
335	4711
336	4730
337	4735
338	4756
339	4780

340	4782
341	4795
342	4801
343	4823
344	4849
345	4854
346	4884
347	4889
348	4913
349	4926
350	4929
351	5033
352	5057
353	5069
354	5075
355	5091
356	5092
357	5108
358	5137
359	5149
360	5177
361	5180
362	5198
363	5222
364	5244
365	5260
366	5265
367	5283
368	5290
369	5304
370	5312
371	5315
372	5321
373	5360
374	5366
375	5373
376	5386
377	5395
378	5413
379	5423
380	5429

381	5434
382	5436
383	5442
384	5463
385	5479
386	5481
387	5527
388	5530
389	5533
390	5543
391	5550
392	5558
393	5559
394	5570
395	5580
396	5630
397	5642
398	5680
399	5706
400	5710
401	5713
402	5738
403	5761
404	5763
405	5779
406	5797
407	5808
408	5815
409	5843
410	5854
411	5874
412	5899
413	5911
414	5920
415	5921
416	5926
417	5951
418	5976
419	5977
420	5993
421	6036

422	6038
423	6065
424	6070
425	6074
426	6086
427	6094
428	6109
429	6112
430	6116
431	6122
432	6130
433	6148
434	6155
435	6159
436	6171
437	6175
438	6186
439	6221
440	6222
441	6233
442	6238
443	6254
444	6255
445	6258
446	6264
447	6272
448	6273
449	6274
450	6295
451	6303
452	6338
453	6344
454	6345
455	6366
456	6377
457	6405
458	6407
459	6418
460	6433
461	6437
462	6439

463	6446
464	6463
465	6465
466	6467
467	6472
468	6473
469	6491
470	6493
471	6501
472	6533
473	6552
474	6559
475	6567
476	6569
477	6591
478	6592
479	6627
480	6646
481	6667
482	6675
483	6678
484	6702
485	6704
486	6711
487	6728
488	6811
489	6815
490	6830
491	6862
492	6867
493	6954
494	6957
495	6973
496	6986
497	6991
498	6992
499	7009
500	7038
501	7058
502	7065
503	7079

504	7096
505	7118
506	7124
507	7127
508	7161
509	7202
510	7225
511	7250
512	7261
513	7263
514	7266
515	7294
516	7304
517	7325
518	7342
519	7353
520	7390
521	7412
522	7434
523	7472
524	7492
525	7495
526	7511
527	7537
528	7557
529	7602
530	7628
531	7661
532	7671
533	7673
534	7709
535	7731
536	7775
537	7790
538	7839
539	7847
540	7885
541	7941
542	7965
543	7976
544	7997

545	8048
546	8070
547	8074
548	8158
549	8165
550	8192
551	8197
552	8202
553	8215
554	8223
555	8235
556	8246
557	8268
558	8287
559	8290
560	8365
561	8412
562	8415
563	8426
564	8440
565	8441
566	8450
567	8451
568	8459
569	8474
570	8494
571	8496
572	8533
573	8538
574	8545
575	8547
576	8575
577	8595
578	8600
579	8630
580	8637
581	8663
582	8687
583	8691
584	8736
585	8746

586	8767
587	8783
588	8788
589	8801
590	8846
591	8852
592	8866
593	8887
594	8903
595	8916
596	9005
597	9053
598	9055
599	9060
600	9079
601	9121
602	9143
603	9148
604	9154
605	9156
606	9161
607	9206
608	9215
609	9223
610	9230
611	9284
612	9290
613	9352
614	9354
615	9364
616	9378
617	9385
618	9386
619	9389
620	9406
621	9502
622	9512
623	9544
624	9556
625	9583
626	9621

627	9623
628	9655
629	9662
630	9689
631	9693
632	9714
633	9717
634	9718
635	9724
636	9727
637	9749
638	9758
639	9761
640	9766
641	9781
642	9800
643	9853
644	9867
645	9879
646	9891
647	9933
648	9948
649	9958
650	9963
651	9993
652	10032
653	10053
654	10054
655	10061
656	10069
657	10087
658	10088
659	10092
660	10104
661	10115
662	10131
663	10175
664	10194
665	10234
666	10260
667	10285

668	10306
669	10308
670	10319
671	10325
672	10336
673	10368
674	10383
675	10388
676	10396
677	10402
678	10409
679	10428
680	10464
681	10569
682	10607
683	10612
684	10633
685	10640
686	10646
687	10687
688	10731
689	10758
690	10772
691	10781
692	10798
693	10853
694	10894
695	10903
696	10909
697	10913
698	10919
699	10958
700	10988
701	10994
702	10997
703	11001
704	11059
705	11062
706	11097
707	11118
708	11132

709	11140
710	11174
711	11217
712	11220
713	11257
714	11262
715	11275
716	11322
717	11323
718	11327
719	11356
720	11363
721	11369
722	11395
723	11398
724	11401
725	11407
726	11419
727	11422
728	11427
729	11436
730	11446
731	11473
732	11476
733	11530
734	11534
735	11541
736	11549
737	11561
738	11563
739	11569
740	11581
741	11595
742	11632
743	11642
744	11659
745	11665
746	11718
747	11729
748	11730
749	11742

750	11757
751	11784
752	11788
753	11805
754	11811
755	11821
756	11827
757	11850
758	11854
759	11861
760	11878
761	11885
762	11901
763	11962
764	11973
765	11977
766	11980
767	12001
768	12030
769	12090
770	12110
771	12113
772	12125
773	12126
774	12127
775	12157
776	12181
777	12183
778	12209
779	12300
780	12343
781	12351
782	12386
783	12392
784	12489
785	12510
786	12523
787	12543
788	12580
789	12614
790	12619

791	12667
792	12675
793	12682
794	12683
795	12701
796	12720
797	12728
798	12745
799	12752
800	12764
801	12776
802	12823
803	12832
804	12833
805	12837
806	12845
807	12854
808	12858
809	12863
810	12864
811	12906
812	12964
813	13013
814	13035
815	13047
816	13066
817	13071
818	13080
819	13090
820	13097
821	13101
822	13119
823	13120
824	13133
825	13154
826	13194
827	13236
828	13250
829	13256
830	13282
831	13316

832	13317
833	13318
834	13325
835	13329
836	13354
837	13366
838	13382
839	13386
840	13391
841	13397
842	13402
843	13428
844	13447
845	13473
846	13489
847	13494
848	13508
849	13518
850	13533
851	13537
852	13554
853	13570
854	13581
855	13607
856	13609
857	13611
858	13623
859	13627
860	13638
861	13648
862	13650
863	13655
864	13667
865	13696
866	13704
867	13722
868	13728
869	13739
870	13744
871	13764
872	13807

873	13838
874	13919
875	13987
876	14036
877	14070
878	14143
879	14186
880	14193
881	14240
882	14256
883	14259
884	14264
885	14265
886	14297
887	14341
888	14361
889	14392
890	14393
891	14411
892	14454
893	14500
894	14505
895	14508
896	14529
897	14547
898	14661
899	14708
900	14709
901	14735
902	14764
903	14770
904	14846
905	14871
906	14883
907	14964
908	14979
909	14988
910	15032
911	15063
912	15095
913	15142

914	15183
915	15213
916	15245
917	15284
918	15377
919	15476
920	15493
921	15533
922	15552
923	15559
924	15590
925	15664
926	15679
927	15694
928	15724
929	15728
930	15733
931	15791
932	15805
933	15824
934	15827
935	15865
936	15902
937	16022
938	16038
939	16042
940	16058
941	16096
942	16100
943	16108
944	16138
945	16231
946	16245
947	16251
948	16272
949	16312
950	16347
951	16393
952	16444
953	16500
954	16508

955	16532
956	16541
957	16549
958	16551
959	16569
960	16572
961	16585
962	16608
963	16627
964	16667
965	16668
966	16692
967	16705
968	16712
969	16735
970	16776
971	16777
972	16818
973	16849
974	16921
975	16936
976	16949
977	17030
978	17037
979	17053
980	17066
981	17094
982	17161
983	17186
984	17259
985	17332
986	17335
987	17369
988	17411
989	17442
990	17472
991	17477
992	17524
993	17605
994	17655
995	17673

996	17677
997	17701
998	17703
999	17728
1000	17735
1001	17784
1002	17792
1003	17806
1004	17848
1005	17862
1006	17874
1007	17887
1008	17929
1009	17950
1010	17978
1011	17983
1012	17990
1013	18004
1014	18020
1015	18100
1016	18113
1017	18136
1018	18220
1019	18289
1020	18319
1021	18322
1022	18349
1023	18368
1024	18439
1025	18450
1026	18541
1027	18611
1028	18635
1029	18653
1030	18654
1031	18681
1032	18685
1033	18697
1034	18700
1035	18821
1036	18843

1037	18920
1038	18922
1039	18943
1040	18957
1041	19053
1042	19066
1043	19079
1044	19122
1045	19155
1046	19187
1047	19233
1048	19241
1049	19300
1050	19307
1051	19331
1052	19352
1053	19355
1054	19365
1055	19411
1056	19418
1057	19420
1058	19448
1059	19478
1060	19487
1061	19521
1062	19613
1063	19625
1064	19632
1065	19671
1066	19685
1067	19688
1068	19725
1069	19727
1070	19753
1071	19759
1072	19762
1073	19773
1074	19779
1075	19789
1076	19802
1077	19804

1078	19825
1079	19893
1080	19943
1081	19951
1082	19954
1083	19992
1084	19999
1085	20005
1086	20031
1087	20042
1088	20046
1089	20058
1090	20074
1091	20075
1092	20101
1093	20118
1094	20148
1095	20152
1096	20154
1097	20179
1098	20205
1099	20210
1100	20222
1101	20237
1102	20239
1103	20242
1104	20249
1105	20251
1106	20269
1107	20272
1108	20282
1109	20284
1110	20288
1111	20292
1112	20302
1113	20311
1114	20318
1115	20352
1116	20354
1117	20358
1118	20367

1119	20372
1120	20410
1121	20423
1122	20430
1123	20453
1124	20464
1125	20471
1126	20480
1127	20482
1128	20485
1129	20492
1130	20493
1131	20500
1132	20501
1133	20505
1134	20518
1135	20520
1136	20526
1137	20539
1138	20562
1139	20575
1140	20580
1141	20583
1142	20589
1143	20604
1144	20608
1145	20610
1146	20613
1147	20614
1148	20615
1149	20626
1150	20634
1151	20653
1152	20665
1153	20682
1154	20683
1155	20692
1156	20694
1157	20698
1158	20701
1159	20702

1160	20712
1161	20714
1162	20738
1163	20741
1164	20754
1165	20759
1166	20774
1167	20783
1168	20789
1169	20795
1170	20813
1171	20819
1172	20830
1173	20839
1174	20842
1175	20844
1176	20851
1177	20867
1178	20868
1179	20869
1180	20870
1181	20877
1182	20881
1183	20894
1184	20903
1185	20907
1186	20926
1187	20927
1188	20934
1189	20947
1190	20958
1191	20980
1192	20981
1193	20991
1194	20994
1195	21005
1196	21058
1197	21061
1198	21070
1199	21085
1200	21122

1201	21165
1202	21170
1203	21183
1204	21202
1205	21235
1206	21238
1207	21244
1208	21248
1209	21262
1210	21268
1211	21279
1212	21286
1213	21288
1214	21301
1215	21307
1216	21344
1217	21386
1218	21400
1219	21423
1220	21432
1221	21442
1222	21447
1223	21449
1224	21450
1225	21463
1226	21486
1227	21489
1228	21492
1229	21494
1230	21495
1231	21505
1232	21510
1233	21535
1234	21538
1235	21547
1236	21548
1237	21556
1238	21588
1239	21591
1240	21596
1241	21605

1242	21620
1243	21635
1244	21636
1245	21655
1246	21660
1247	21667
1248	21669
1249	21673
1250	21690
1251	21696
1252	21703
1253	21714
1254	21719
1255	21738
1256	21743
1257	21756
1258	21761
1259	21766
1260	21778
1261	21792
1262	21793
1263	21804
1264	21818
1265	21822
1266	21824
1267	21829
1268	21831
1269	21844
1270	21857
1271	21871
1272	21892
1273	21905
1274	21911
1275	21919
1276	21920
1277	21922
1278	21924
1279	21937
1280	21947
1281	21951
1282	21962

1283	21972
1284	21980
1285	21989
1286	21992
1287	22005
1288	22009
1289	22032
1290	22033
1291	22041
1292	22065
1293	22074
1294	22091
1295	22108
1296	22125
1297	22137
1298	22138
1299	22154
1300	22194
1301	22207
1302	22214
1303	22227
1304	22236
1305	22240
1306	22263
1307	22270
1308	22279
1309	22281
1310	22313
1311	22328
1312	22332
1313	22335
1314	22337
1315	22338
1316	22342
1317	22360
1318	22368
1319	22377
1320	22392
1321	22432
1322	22438
1323	22444

1324	22446
1325	22448
1326	22454
1327	22459
1328	22462
1329	22463
1330	22467
1331	22470
1332	22476
1333	22486
1334	22492
1335	22495
1336	22510
1337	22514
1338	22515
1339	22544
1340	22546
1341	22556
1342	22557
1343	22562
1344	22568
1345	22571
1346	22586
1347	22593
1348	22603
1349	22617
1350	22621
1351	22626
1352	22639
1353	22647
1354	22667
1355	22676
1356	22680
1357	22685
1358	22693
1359	22699
1360	22708
1361	22715
1362	22748
1363	22764
1364	22767

1365	22783
1366	22786
1367	22789
1368	22799
1369	22800
1370	22806
1371	22810
1372	22814
1373	22819
1374	22821
1375	22829
1376	22831
1377	22836
1378	22837
1379	22844
1380	22857
1381	22864
1382	22875
1383	22876
1384	22880
1385	22892
1386	22895
1387	22914
1388	22920
1389	22923
1390	22930
1391	22938
1392	22940
1393	22943
1394	22953
1395	22965
1396	22969
1397	22979
1398	22988
1399	22990
1400	22991
1401	22994
1402	23001
1403	23004
1404	23009
1405	23019

1406	23024
1407	23055
1408	23058
1409	23059
1410	23086
1411	23087
1412	23096
1413	23101
1414	23106
1415	23110
1416	23111
1417	23116
1418	23131
1419	23134
1420	23148
1421	23176
1422	23206
1423	23236
1424	23268
1425	23281
1426	23283
1427	23285
1428	23286
1429	23289
1430	23301
1431	23305
1432	23314
1433	23320
1434	23324
1435	23328
1436	23376
1437	23377
1438	23406
1439	23409
1440	23411
1441	23417
1442	23422
1443	23423
1444	23437
1445	23444
1446	23466

1447	23501
1448	23512
1449	23513
1450	23541
1451	23543
1452	23547
1453	23551
1454	23599
1455	23606
1456	23619
1457	23623
1458	23631
1459	23633
1460	23638
1461	23645
1462	23650
1463	23655
1464	23659
1465	23677
1466	23682
1467	23685
1468	23698
1469	23711
1470	23715
1471	23730
1472	23740
1473	23769
1474	23792
1475	23824
1476	23828
1477	23836
1478	23862
1479	23866
1480	23869
1481	23872
1482	23898
1483	23915
1484	23926
1485	23928
1486	23933
1487	23952

1488	23954
1489	23962
1490	23966
1491	23974
1492	23986
1493	23995
1494	24004
1495	24009
1496	24014
1497	24017
1498	24068
1499	24080
1500	24084
1501	24102
1502	24106
1503	24118
1504	24119
1505	24122
1506	24125
1507	24161
1508	24195
1509	24197
1510	24256
1511	24258
1512	24269
1513	24280
1514	24299
1515	24302
1516	24317
1517	24321
1518	24323
1519	24325
1520	24351
1521	24360
1522	24375
1523	24380
1524	24386
1525	24422
1526	24425
1527	24433
1528	24440

1529	24441
1530	24446
1531	24467
1532	24478
1533	24480
1534	24494
1535	24502
1536	24510
1537	24521
1538	24523
1539	24541
1540	24571
1541	24578
1542	24592
1543	24599
1544	24609
1545	24612
1546	24616
1547	24641
1548	24642
1549	24646
1550	24654
1551	24656
1552	24662
1553	24675
1554	24698
1555	24700
1556	24712
1557	24718
1558	24726
1559	24735
1560	24742
1561	24761
1562	24792
1563	24803
1564	24819
1565	24836
1566	24845
1567	24855
1568	24856
1569	24870

1570	24874
1571	24877
1572	24878
1573	24879
1574	24885
1575	24903
1576	24915
1577	24929
1578	24964
1579	24967
1580	24981
1581	24984
1582	24993
1583	24995
1584	24997
1585	25012
1586	25025
1587	25032
1588	25065
1589	25073
1590	25080
1591	25100
1592	25101
1593	25106
1594	25112
1595	25118
1596	25126
1597	25131
1598	25166
1599	25202
1600	25224
1601	25226
1602	25229
1603	25253
1604	25254
1605	25258
1606	25270
1607	25284
1608	25294
1609	25337
1610	25338

1611	25344
1612	25366
1613	25373
1614	25374
1615	25393
1616	25402
1617	25413
1618	25418
1619	25431
1620	25439
1621	25447
1622	25457
1623	25463
1624	25470
1625	25508
1626	25514
1627	25517
1628	25520
1629	25548
1630	25556
1631	25573
1632	25576
1633	25580
1634	25594
1635	25595
1636	25599
1637	25604
1638	25623
1639	25670
1640	25675
1641	25688
1642	25689
1643	25723
1644	25726
1645	25744
1646	25804
1647	25807
1648	25817
1649	25821
1650	25823
1651	25827

1652	25832
1653	25846
1654	25870
1655	25878
1656	25886
1657	25896
1658	25912
1659	25933
1660	25949
1661	25953
1662	25980
1663	25982
1664	25990
1665	25992
1666	26005
1667	26015
1668	26017
1669	26021
1670	26032
1671	26034
1672	26036
1673	26056
1674	26058
1675	26080

Tabla 3A. Análisis de varianza molecular (AMOVA) con base en las variantes outliers, de la especie *Coryphaena hippurus* considerando cinco grupos, a) individuos adultos y b) Individuos juveniles.

a)

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
Entre grupos	0.34504	$F_{CT} = 0.00345$	0.45317
Entre poblaciones dentro de grupos	-0.20245	$F_{SC} = -0.00203$	0.58188
Dentro de poblaciones	99.85742	$F_{ST} = 0.00143$	0.33594

b)

Fuente de variación	Porcentaje de variación	Estadísticos de F	Valor de P
----------------------------	--------------------------------	--------------------------	-------------------

Entre grupos	1.75686	$F_{CT} = 0.01757$	0.22624
Entre poblaciones dentro de grupos	-1.92293	$F_{SC} = -0.01957$	0.61614
Dentro de poblaciones	100.16607	$F_{ST} = -0.00166$	0.63525