

Elaboró: Adrian Munguia-Vega, PhD
airdrian@arizona.edu
15 Junio 2021

Reporte final

ESTRUCTURA METAPOBLACIONAL DE LA ALMEJA CHOCOLATA *Megapitaria squalida*
EN BAHÍA ALTATA, SINALOA, A PARTIR DE DATOS GENÓMICOS



Participantes:

Martha Rosales Rodriguez de la Cruz, Aristoteles Stavrinsky (Environmental Defense Fund, EDF de Mexico)

Carlos M. Alvarez-Flores, Alejandro Castillo-Lopez, Pablo Alvarez-Morales (Pronatura Noroeste A.C.)

Dario Chávez, Evlin Ramírez (Centro Regional de Investigación Pesquera CRIP-MAZATLAN, INAPESCA)

Victor Rubio

Introducción

La almeja chocolata *Megapitaria squalida*, se distribuye desde la costa occidental de la Península de Baja California, México, hasta Perú, incluyendo el Golfo de California. Es un organismo filtrador que vive enterrado en el sedimento arenoso, de la zona intermareal hasta profundidades de ~160 m. Su concha alcanza hasta 120 mm de longitud. Un estudio histológico realizado en el Sureste del Golfo de California (Bahía Altata, Sinaloa) durante 2013-2014 reportó una actividad reproductiva para *M. squalida* durante todo el año, con picos en Octubre y Febrero (Alvarez-Dagnino et al., 2017).

El manejo de los recursos biológicos de importancia pesquera requiere del suministro de información científica relevante sobre las poblaciones o stocks que integran las especies. Las poblaciones de invertebrados marinos como *M. squalida* presentan un ciclo de vida complejo que inicia con una etapa larvaria donde es transportada por corrientes marinas durante varias semanas, antes de convertirse en una larva pediveliger bentónica y convertirse en un juvenil y adulto semi-sedentario. Actualmente, se carece de información suficiente que permita evaluar este recurso y tener una estimación del nivel de estructuración genética y dinámica metapoblacional, enfocados a reconocer unidades o stocks pesqueros que permitan plantear estrategias de manejo sustentable de la pesquería. Incorporar información sobre la estructura poblacional en los esquemas de manejo pesquero es crucial para evitar la sobre-explotación de un recurso y los impactos negativos a las pesquerías locales, por ejemplo, al ignorar la magnitud de la contribución diferencial que sitios distintos tienen dentro de la metapoblación (Goethel and Berger, 2017; Kerr et al., 2017; Okamoto et al., 2020).

La conectividad marina se refiere al transporte de larvas por corrientes marinas y al movimiento de individuos adultos entre sitios (Munguia-Vega et al., 2018a). Dependiendo de la dirección e intensidad de las corrientes marinas, una localidad específica donde se encuentra una población de individuos semi sedentarios en estado adulto como la almeja chocolata puede ser clasificada como: 1) un sitio autosuficiente, cuando las larvas que produce se quedan ahí mismo o son retenidas localmente hasta convertirse en adultos, 2) una fuente de larvas, cuando las larvas que produce son exportadas en su mayoría a otros sitios de pesca adyacentes donde se convierten en adultos, y 3) un sumidero de larvas, cuando depende en su mayoría de larvas producidas en otros sitios adyacentes (Munguia-Vega et al., 2018b). En general, la identificación de sitios fuente de larvas es clave para recuperar los recursos pesqueros pues su contribución de larvas puede sostener a zonas de pesca adyacentes. Los sitios autosuficientes también pueden ayudar a recuperar la pesca mediante el efecto de desbordamiento de larvas en las zonas de pesca aledañas, pero su impacto será más local.

En el Golfo de California, las corrientes marinas siguen una dirección predominante paralela a la costa (similar a un río dentro del océano) debido a la presencia de giros oceanográficos que cambian de dirección entre la temporada cálida (primavera-verano) y la temporada fría (otoño invierno) (Marinone, 2012). La exportación de larvas entre sitios depende de la intensidad y dirección de las corrientes oceánicas predominantes durante la temporada reproductiva de la especie, así como de la duración de la etapa planctónica. Para especies de bivalvos en el Golfo de California con una duración de la etapa larvaria entre 2 y 3 semanas (Soria et al., 2014), la exportación de larvas puede realizarse entre sitios separados en promedio entre

45 y hasta 170 km, mientras que el 95% de la distribución puede alcanzar hasta 250-300 km (Munguia-Vega et al., 2018a).

Para entender cómo se realiza la dispersión de larvas en el océano a través de corrientes marinas, existen varias herramientas científicas, incluyendo la modelación de corrientes marinas y los análisis de genética y genómica poblacional (Cowen and Sponaugle, 2009). Algunos estudios recientes en el Noroeste de México han empleado datos genéticos para estimar la estructura metapoblacional e informar el manejo de pesquerías en el callo escarlopa (Soria et al., 2012), la cabrilla sardinera (Munguia-Vega et al., 2014), el abulón (Munguia-Vega et al., 2015b; Mejía-Ruiz et al., 2020; Alberto Mares-Mayagoitia et al., 2021), la almeja generosa (Munguia-Vega et al., 2015a), el huachinango (Munguia-Vega et al., 2018b) la jaiba (Cisneros-Mata et al., 2019) y el pargo amarillo (Reguera-Rouzaud et al., 2020).

Los análisis de genómica poblacional involucran la siguiente serie de pasos: a) Tomar muestras de tejido (e.g. 1 cm² de tejido, y preservarlo en alcohol etílico en un tubo o vial) de al menos ~30 individuos de cada sitio de interés. b) Extraer el ADN de las células del tejido mediante métodos establecidos de laboratorio. c) Tener acceso a un marcador genético en la especie de interés que permita identificar los alelos o variantes genéticas presentes en ese individuo en particular. Algunos marcadores genéticos comúnmente utilizados incluyen marcadores denominados microsatélites, que son regiones repetitivas y altamente variables del ADN (Soria et al. 2012) y más recientemente polimorfismos de una sola base (SNPs, por sus siglas en inglés Single Nucleotide Polymorphism) (Ekblom and Galindo, 2011). d) Identificar la variación presente en el marcador molecular en cada uno de los individuos muestreados. e) Realizar análisis que permitan la identificación de los sitios de donde provienen los individuos muestreados. Algunos de los análisis más comunes incluyen la identificación de migrantes de primera generación, tasas de migración direccional entre sitios y estimación de niveles promedio de parentesco genético por localidad que puede ser un indicador del nivel de retención local de larvas. También es posible definir la conectividad demográfica entre sitios y la estructura metapoblacional con el fin de identificar si las poblaciones muestreadas corresponden a un mismo stock pesquero.

El Sistema Lagunar Altata-Ensenada del Pabellón se ubica en los municipios de Navolato y Culiacán, del Estado de Sinaloa. El sistema está constituido por dos cuencas relativamente someras, correspondientes a las lagunas Altata al noroeste y Pabellón al sureste, parcialmente separadas entre sí por un angostamiento pronunciado. Los productores y socios activos de 17 cooperativas que operan legalmente en el sistema lagunar, amparados por permisos y concesiones, se dedican tradicionalmente a la explotación de los recursos pesqueros locales, fundamentalmente: crustáceos (camarones y jaibas), moluscos (almejas, ostiones y caracoles) y peces (de escama, rayas y cazones), siendo los moluscos bivalvos la principal pesquería en términos de captura con un promedio anual de 241 toneladas de almejas entre los años 2000 y 2015 (DOF, 2019). Dentro de las especies de bivalvos, la almeja chocolate representa una de las especies más abundantes y una de las principales especies objetivo. La pesca de almejas se realiza mediante recolecta manual. Se utilizan embarcaciones tipo panga de 6 a 7 m de eslora, con 3 a 4 tripulantes; algunas cuentan con bodegas refrigeradas para la conservación del producto. Las almejas se capturan a profundidades menores a un metro, con la ayuda de un trinche para remover la arena y una bolsa de malla llamada "jaba" (DOF, 2019).

La pesca comercial y de autoconsumo ha propiciado el deterioro de algunas poblaciones de almejas durante el periodo del 2006 al 2014, principalmente, las de mayor valor comercial

como la almeja chocolata (DOF, 2019). Como una medida de manejo para la conservación y aprovechamiento sustentable de *M. squalida* y otros moluscos bivalvos, en Abril del 2018 se estableció una Zona de Refugio Pesquero total permanente en el Sistema Lagunar Bahía de Altata-Ensenada del Pabellón (DOF, 2018). El refugio pesquero tiene una extensión de 1.6 Ha y estará vigente por un periodo de 5 años. Adicionalmente, debido al descenso significativo de las capturas históricas de *M. squalida* en los últimos 18 años, en Abril 2020 se estableció una veda temporal por dos años para este recurso en el Sistema Lagunar Altata-Ensenada del Pabellón con objeto de contribuir a su recuperación poblacional (DOF, 2020).

Aunque la identificación de la estructura metapoblacional es clave para el manejo sustentable de una pesquería respecto a su tasa de explotación y monitoreo espacio-temporal (MSC, 2014), no existe actualmente información sobre la distribución espacial del stock pesquero de *M. squalida* y la dinámica metapoblacional de los bancos de la especie dentro del complejo lagunar Altata-Ensenada del Pabellón. Adicionalmente, la pesca puede alterar los niveles de diversidad genética (Pinsky and Palumbi, 2014) e interactuar negativamente con cambios ambientales que afectan el reclutamiento de especies marinas, por ejemplo ante el cambio climático en sistemas marinos del Noroeste de México (Asch, 2015; Paez-Osuna et al., 2016), llevando al colapso de pesquerías que alguna vez fueron abundantes (Pershing et al., 2015).

El presente estudio utilizó una metodología relativamente reciente (ddRAD-Seq) para obtener una gran cantidad de información genómica de los organismos y descubrir y obtener marcadores tipo SPNs. De esta manera, fue posible llevar a cabo un análisis de la variabilidad genética y diferenciación poblacional. Los resultados obtenidos a partir del desarrollo del presente estudio representa conocimiento cuya aplicación futura puede vislumbrarse en distintas vertientes. Aporta información precisa de las poblaciones o stocks que conforman a la especie, y del grado y modo de conectividad entre los mismos; en consecuencia dicha información podrá ser empleada en el diseño de medidas de manejo para el recurso. A partir de la caracterización poblacional es posible establecer la relación entre el reclutamiento (vía análisis genómicos) con la población fuente y estimar la contribución de cada una de las poblaciones detectadas a la biomasa producida, así como patrones de retención local de larvas y tamaño efectivo poblacional.

Objetivo general:

Generar información científica sobre la estructura metapoblacional y patrones de dispersión larvaria en poblaciones de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* que permita mejorar el manejo de la pesquería en Bahía Altata, Sinaloa.

Objetivos específicos:

1. Determinar la diversidad genómica neutral y el tamaño efectivo poblacional con base en marcadores moleculares tipo SNPs.
2. Estimar la dinámica metapoblacional de fuentes, sumideros y retención larvaria local dentro de cada sitio de muestreo mediante tasas direccionales de dispersión larvaria entre localidades,

estudios de paternidad, estimación de parientes en primer y segundo grado, e identificación de individuos migrantes entre localidades.

A continuación, se presentan los cinco entregables comprometidos en la presente consultoría:

I. Breve protocolo con indicaciones para la toma y preservación de muestras y colecta de datos en campo.

1. Para la toma de muestras en campo, se recomienda coleccionar los individuos de almeja completos para evitar tener que disectar, fijar y procesar muestras en el campo.
2. Para evitar la degradación del ADN genómico, es indispensable que las almejas sean preservadas inmediatamente en congelación en una hielera, y que se mantenga la cadena de frío hasta su transporte al laboratorio.
3. Es indispensable evitar ciclos de descongelación/congelación de las muestras, pues estos ciclos degradan el ADN genómico, lo que podría inutilizar las muestras para los análisis genómicos.
4. Se requieren idealmente al menos 30 almejas de cada uno de los sitios de colecta.
5. En cada sitio de muestreo, es necesario registrar las coordenadas GPS donde fueron capturados los individuos.
6. También es necesario realizar un registro fotográfico del proceso de colecta en campo, así como anotar cualquier observación relevante durante la colecta. Por ejemplo, si la morfología de los individuos era distinta a lo normal, o si se tomaron muestras en dos sitios separados por una distancia específica, etc.

II. Reporte de las muestras de almeja chocolate recibidas y la cantidad/calidad de ADN genómico obtenido de cada muestra.

El 10 y 12 de septiembre del 2020, se realizó la colecta de 198 almejas (Tabla 1) en 5 sitios dentro del Sistema Lagunar Altata-Ensenada del Pabellón (Fig. 1) y 2 sitios ubicados ~140 km al norte (Topolobampo y Cerro Cabezón, Fig. 2). Los muestreos fueron realizados mediante buceo tipo hooka por el Sr. Víctor Alfonso Rubio González, Presidente de la Federación de Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera Reencuentro Pesquero, José Luis Rubio González y Jesús Antonio Rendón Rubio.

Se realizó la extracción de ADN genómico mediante el método de sales (Miller et al., 1988). La calidad de las muestras fué evaluada mediante electroforesis en geles de Agarosa al 1.2 % (Fig. 3 y 4) y cuantificaciones con un flurómetro QUBIT. Fue necesario repetir la extracción del ~50% de las muestras para obtener una mayor cantidad de ADN necesaria para la construcción de la librería. Las 192 muestras incluídas en la construcción de las librerías genómicas presentaron concentraciones iniciales entre 9.92 y 86.4 ng/ μ l (Tabla 2). Siete muestras fueron excluídas por presentar concentraciones demasiado bajas tras repetir la extracción de ADN.

Tabla 1. Sitios de colecta y número de muestras de almeja chocolate.

#	Sitio de Colecta	Fecha de Colecta	Número de muestras	Rango de tallas (cm)
1	Altata Sitio 1	10 Septiembre 2020	3	5.0 - 7.6
2	Altata Sitio 2	10 Septiembre 2020	21	4.0 - 7.8
3	Altata Sitio 3	10 Septiembre 2020	35	4.7 - 8.7
4	Altata Sitio 4	10 Septiembre 2020	35	4.5 - 6.7
5	Altata Sitio 5	10 Septiembre 2020	34	4.2 - 6.5
6	Topolobampo	12 Septiembre 2020	35	5.7 - 8.5
7	Cerro Cabezón	12 Septiembre 2020	35	5.6 - 9.5
		Total	198	

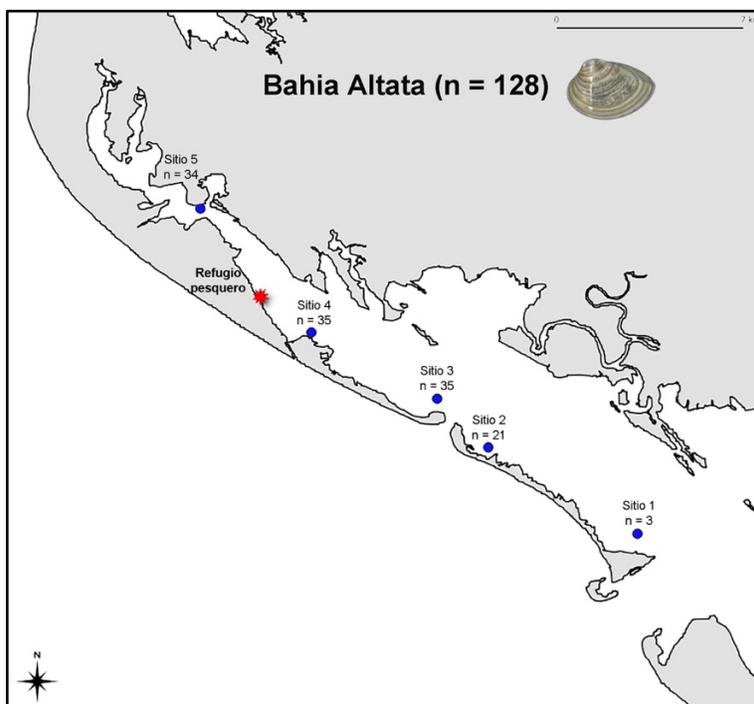


Figura 1. Mapa mostrando la ubicación de las muestras colectadas en Bahía Altata y los respectivos tamaños de muestra.

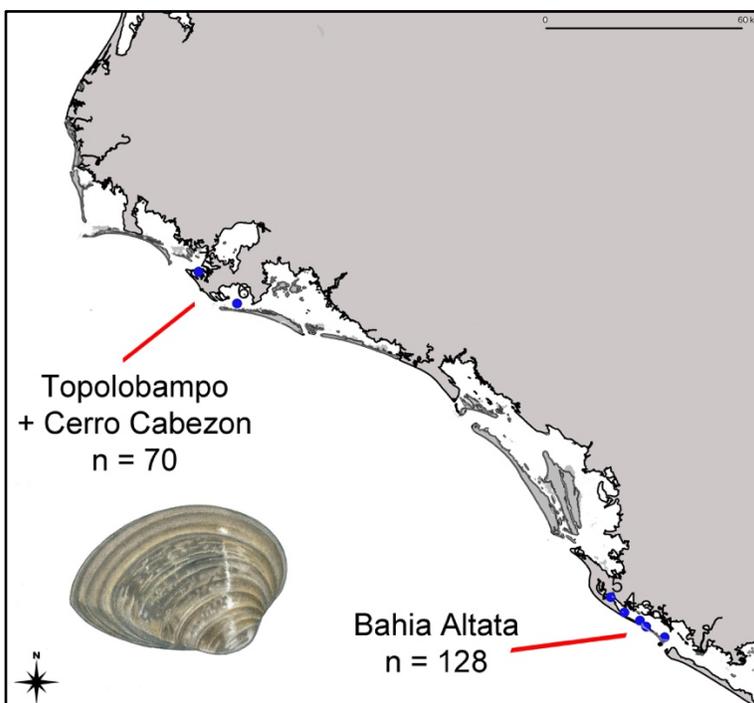


Figura 2. Mapa mostrando la ubicación de las muestras colectadas en Topolobampo y Cerro Cabezón y los respectivos tamaños de muestra.

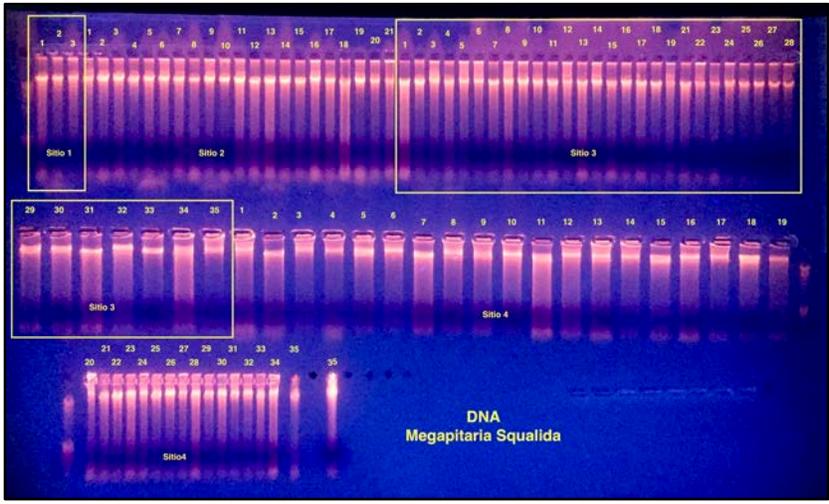


Figura 3. Resultado de electroforesis de ADN genómico para muestras de Bahía Altata.

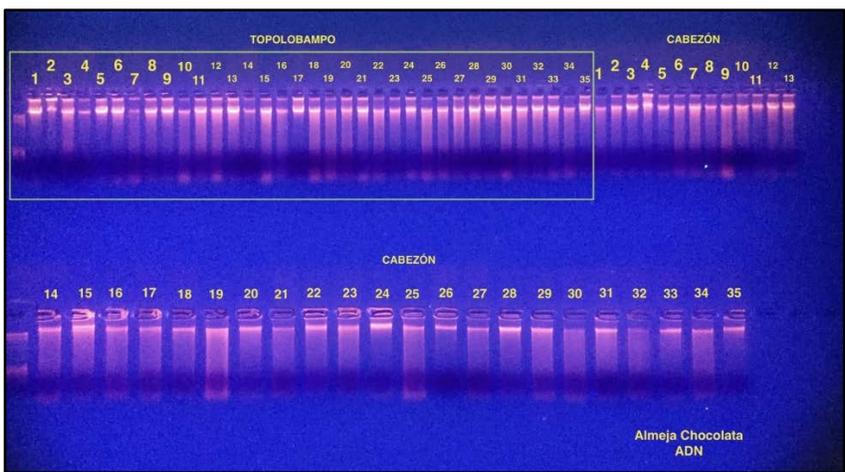


Figura 4. Resultado de electroforesis de ADN genómico para muestras de Topolobambo y Cerro Cabezón.

Tabla 2. Concentración de ADN genómico para 192 muestras de almeja chocolate incluidas en las librerías de SNPs.

Muestra	(ng/uL)	Muestra	(ng/uL)	Muestra	(ng/uL)	Muestra	(ng/uL)
sitio 1#1	42	sitio 3#25	26.2	sitio 5#5	62.4	Topolobampo#21	25.6
sitio 1#2	26	sitio 3#26	27.2	sitio 5#6	24.6	Topolobampo#22	19.84
sitio 1#3	19.04	sitio 3#27	42	sitio 5#7	23.8	Topolobampo#23	12.96
sitio 2#1	19.68	sitio 3#28	32.2	sitio 5#8	19.86	Topolobampo#24	18.24
sitio 2#2	25.6	sitio 3#29	34.2	sitio 5#9	24	Topolobampo#25	20.6
sitio 2#3	34	sitio 3#30	32	sitio 5#10	46.4	Topolobampo#26	19.52
sitio 2#4	27.6	sitio 3#31	78	sitio 5#11	23.6	Topolobampo#27	20.8
sitio 2#5	22.6	sitio 3#32	34.4	sitio 5#12	23.8	Topolobampo#28	31
sitio 2#6	29.8	sitio 3#33	44.8	sitio 5#13	23.4	Topolobampo#29	22.4
sitio 2#7	29.8	sitio 3#34	26.4	sitio 5#14	23.4	Topolobampo#30	35
sitio 2#8	14.32	sitio 3#35	38.6	sitio 5#15	17.48	Topolobampo#31	22
sitio 2#9	51.8	sitio 4#1	18.96	sitio 5#16	27.6	Topolobampo#32	27.2
sitio 2#10	18.56	sitio 4#2	31	sitio 5#17	24.4	Topolobampo#33	20
sitio 2#11	54	sitio 4#3	16.48	sitio 5#18	26	sitio 4#33	86.4
sitio 2#12	46.6	sitio 4#4	35.4	sitio 5#19	35.4	sitio 4#35	77.8
sitio 2#13	44.4	sitio 4#5	34.8	sitio 5#20	23.4	Cabezón#1	10.8
sitio 2#14	29.6	sitio 4#6	41	sitio 5#21	21.6	Cabezón#2	14.4
sitio 2#15	21.6	sitio 4#7	27	sitio 5#22	31.2	Cabezón#3	22.8
sitio 2#16	32.8	sitio 4#8	34	sitio 5#23	21.2	Cabezón#4	27.2
sitio 2#17	32.4	sitio 4#9	31.6	sitio 5#24	24.4	Cabezón#5	10.8
sitio 2#18	84.8	sitio 4#10	80.8	sitio 5#25	10.36	Cabezón#6	16.72
sitio 2#19	37.4	sitio 4#11	82.4	sitio 5#26	16.36	Cabezón#7	27
sitio 2#20	36.4	sitio 4#12	78	sitio 5#27	25.6	Cabezón#8	16.8
sitio 2#21	43.4	sitio 4#13	73	sitio 5#28	21.2	Cabezón#9	26.6
sitio 3#1	45	sitio 4#14	55.6	sitio 5#29	16.86	Cabezón#10	16.32
sitio 3#2	44.8	sitio 4#15	78.2	sitio 5#30	17.48	Cabezón#11	11.68
sitio 3#3	62	sitio 4#16	72.2	sitio 5#31	25.6	Cabezón#12	39.2
sitio 3#4	44.8	sitio 4#17	81.6	sitio 5#32	20.6	Cabezón#13	27
sitio 3#5	50.6	sitio 4#18	59.8	sitio 5#33	31	Cabezón#14	22
sitio 3#6	31.2	sitio 4#19	74.8	sitio 5#34	44.8	Cabezón#15	34.4
sitio 3#7	25.6	sitio 4#20	37.2	Topolobampo#1	31	Cabezón#16	17.04
sitio 3#8	54.6	sitio 4#21	68.8	Topolobampo#2	18.72	Cabezón#17	17.28
sitio 3#9	54.4	sitio 4#22	61.2	Topolobampo#3	18.96	Cabezón#18	14
sitio 3#10	26.8	sitio 4#23	82.4	Topolobampo#5	21.12	Cabezón#19	37.2
sitio 3#11	43.2	sitio 4#24	55.6	Topolobampo#6	22	Cabezón#20	16.56
sitio 3#12	41.8	sitio 4#25	75.2	Topolobampo#7	10.08	Cabezón#21	11.44

sitio 3#13	41.6	sitio 4#26	75.6	Topolobampo#8	16	Cabazon#22	18.16
sitio 3#14	48.8	sitio 4#27	61.6	Topolobampo#9	20.2	Cabazon#23	19.84
sitio 3#15	35.6	sitio 4#28	35	Topolobampo#10	12.48	Cabazon#24	30.6
sitio 3#16	31.8	sitio 4#29	76.6	Topolobampo#11	26.8	Cabazon#25	23
sitio 3#17	36	sitio 4#30	58.2	Topolobampo#12	26.4	Cabazon#28	18.64
sitio 3#18	43.6	sitio 4#31	43.6	Topolobampo#13	27.2	Cabazon#29	27.8
sitio 3#19	32.6	sitio 4#32	73.4	Topolobampo#15	27.6	Cabazon#30	9.92
sitio 3#20	56.8	sitio 4#33	86.4	Topolobampo#16	14.08	Cabazon#31	24
sitio 3#21	43.6	sitio 4#34	52	Topolobampo#17	22	Cabazon#32	11.84
sitio 3#22	19.6	sitio 4#35	77.8	Topolobampo#18	25.6	Cabazon#33	21.6
sitio 3#23	52.8	sitio 5#3	23	Topolobampo#19	19.6	Cabazon#34	26.4
sitio 3#24	20.8	sitio 5#4	17.06	Topolobampo#20	15.36	Cabazon#35	17.44

III. Reporte de la construcción de librerías genómicas de representación reducida (ddRAD-Seq) para la genotipificación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en al menos 120 individuos de almeja provenientes de al menos 6 localidades.

Se empleó el método ddRAD-Seq (Secuenciado de ADN Asociado a Sitios de Doble Restricción) (Peterson et al., 2012) con la intención de detectar y obtener los genotipos de marcadores moleculares del polimorfismos de una sola base (SNPs) neutrales ubicados a lo largo del genoma. Se realizó la digestión doble de 200-500 ng de ADN de cada individuo con las enzimas de restricción *EcoRI* y *MSpl* (Fig. 5). Las digestiones se purificaron con un volumen 1.5X de perlas paramagnéticas (AMPure XP beads). Se realizó la ligación de adaptadores específicamente diseñados para unirse a los extremos cohesivos resultantes de la digestión de las enzimas de restricción. Se emplearon 48 adaptadores con un código de barras únicos. en presencia de la enzima T4 DNA ligasa. Los DNAs individuales marcados con un código de barras distinto fueron mezclados en concentraciones equimolares para crear cuatro pools de 48 individuos. En cada pool distinto, los fragmentos de ADN cortos y el exceso de adaptadores fueron removidos con perlas para-magnéticas (AMPure XP). Se realizó la selección de fragmentos entre 270-330 pb mediante el equipo PIPPIN PREP en el rango de tamaño deseado, seguido de una purificación con perlas magnéticas. Las librerías resultantes fueron amplificadas con ocho réplicas cada una con el kit Phusion Polymerase (NEB) para aumentar su concentración e incluir las secuencias de alienación de celdas y los primers de secuenciación Illumina (Figura 6). Además, el primer reverse (PCR2) incluyó un índice adicional distinto para la identificación de cada uno de los cuatro pools de 48 códigos de barras distintos, permitiendo así la identificación de las variantes de cada uno de los individuos. Las reacciones de PCR fueron combinadas, purificadas con perlas para-magnéticas (AMPure XP), cuantificadas en el QUBIT Y Agilent Bioanalyzer para determinar molaridad y la distribución del tamaño de los fragmentos (Fig. 7) y posteriormente las muestras fueron combinadas en concentraciones equimolares para su secuenciación masiva.

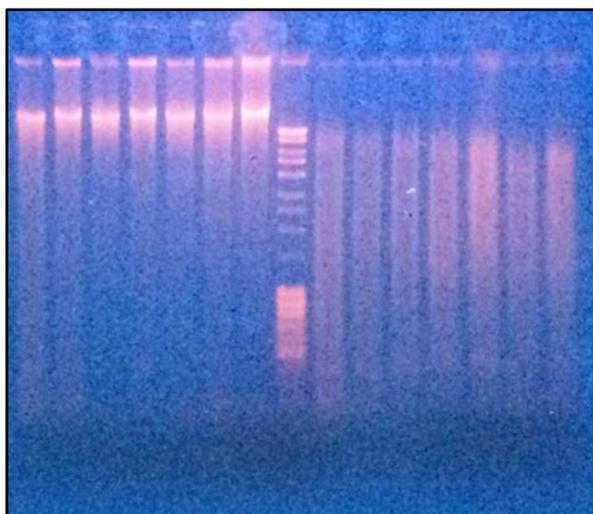


Figura 5. Ejemplo del resultado de electroforesis de 7 muestras de ADN genómico (izquierda) y las mismas muestras para verificar su digestión con enzimas *EcoRI* y *MSpl*.

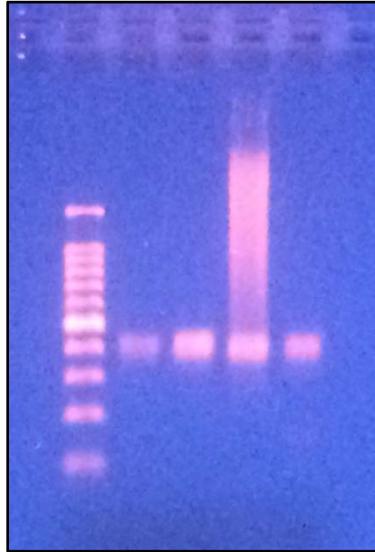


Figura 6. Resultado de electroforesis para verificar la calidad, cantidad, pureza, integridad, ligación exitosa de adaptadores y rango de tamaño de los 4 pools de la librería genómica entre 325 y 425 pares de bases antes de enviar a secuenciación masiva.

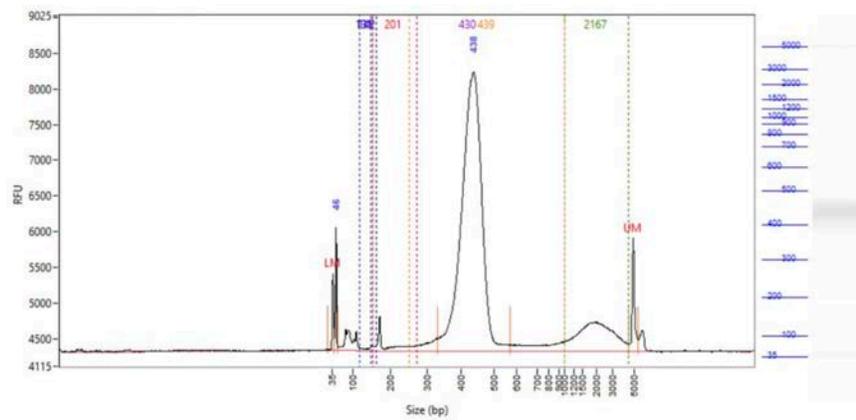


Figura 7. Verificación mediante un chip de Bioanalyzer de la concentración y distribución de fragmentos de ADN de la librería de almeja chocolata previo a su secuenciación.

IV. Reporte de la secuenciación Illumina Hi-seq 150 x 2 y de análisis bioinformáticos de control de calidad, profundidad de cobertura e identificación de SNPs.

Las librerías resultantes fueron secuenciadas en una línea de secuenciación Illumina HiSeq 4000 150 pb x 2. La secuenciación fue exitosa y se obtuvo ~1 billón de secuencias totales representando 144 Gigabases de ADN secuenciadas, de las cuales 98.3% contenían los índices esperados que identificaban cada uno de los pools (Tabla 3). Los porcentajes de error en la secuenciación fueron $\leq 0.03\%$, mientras que entre 91.09 % - 97.41% de las secuencias obtenidas tuvieron una calidad $\geq 99\%$.

Las secuencias resultantes del ddRAD-Seq fueron separadas bioinformáticamente con el programa Stacks 2.58 (Catchen et al., 2013). Se filtraron las secuencias aplicando un criterio de calidad de phred de 20, y se eliminaron las secuencias de los adaptadores. Las lecturas individuales fueron agrupadas en regiones homólogas (*loci de-novo*) con una cobertura mínima de 10X para la identificación de SNPs. Los sitios polimórficos fueron filtrados para extraer solo aquellos sitios con genotipos confiables y asignados a $>80\%$ de los individuos muestreados, incluyendo un SNP representativo por cada loci. Se eliminaron loci en los que la frecuencia del alelo menos frecuente fue menor o igual a 1%, aquellos loci que mostraron desviaciones significativas al equilibrio de Hardy Weinberg y evidencia estadística de ligamiento. El set de datos final con el que se realizaron todos los análisis estadísticos para la estimación de parámetros poblacionales incluyó 120 individuos analizados para 1,014 marcadores SNP (i.e. loci) independientes y neutrales.

Tabla 3. Resumen de la secuenciación de la librería genómica de almeja chocolata, compuesta de cuatro pools distintos de 48 individuos cada uno.

Pool	Secuencias obtenidas	Datos (Gigabases)	% Error	% calidad $\geq 99\%$
1	265,898,372	39.9	0.01	97.41
2	277,024,558	41.6	0.01	97.62
3	130,640,078	19.6	0.03	91.09
4	265,172,326	39.8	0.02	94.66
No determinadas	16,823,134	2.5	-	-

V. Reporte en español con resultados de la estimación de parámetros demográficos a partir de los genotipos para al menos 1,000 marcadores SNPs, incluyendo: descripción de niveles de variación genómica, estimaciones de tasas direccionales de dispersión larvaria entre localidades, determinación de tasas de retención larvaria local dentro de cada sitio a partir de análisis de parentesco, caracterización del papel de cada localidad como fuente o sumidero de larvas en un contexto metapoblacional, estimaciones de tamaño efectivo poblacional para cada sitio. El reporte describirá las implicaciones de los análisis de estructura poblacional, dispersión de larvas y tendencia de abundancia entre sitios para mejorar el manejo de la pesquería de la almeja chocolata en Bahía Altata, Sinaloa.

Se realizaron análisis para caracterizar la diversidad genómica dentro de cada sitio muestreado (número de alelos, heterocigosidad observada y esperada), empleando el software GENALEX 6.51b (Peakall and Smouse, 2012). En todos los análisis, las 3 muestras del sitio Altata 1 fueron incluidas junto con el sitio Altata 2, y se presenta en los resultados como sitio ALT1-2. Se utilizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) y un análisis de componentes principales (PCA) para estimar las diferencias en las frecuencias alélicas presentes entre los sitios muestreados, y se calcularon los índices de fijación estandarizados F_{st} entre cada par de sitios muestreados (Meirmans and Hedrick, 2011). Se calculó el estimador de parentesco de Ritland entre cada par de individuos (Lynch and Ritland, 1999), y los valores obtenidos se emplearon para calcular el parentesco promedio dentro de cada sitio muestreado.

Se identificaron pares de individuos que mostraban evidencia genética como parientes en primer grado (padre-hijo, o hermanos de los mismos padres) o parientes en segundo grado (medios hermanos, abuelo-nieto, primos directos, etc.) con el software COLONY (Jones and Wang, 2010). Se realizaron estimaciones de tamaño efectivo poblacional (N_e) con el software NE-ESTIMATOR 2.0, empleando los métodos de desequilibrio por ligamiento (LD) y coancestría molecular (Do et al., 2013). Se identificaron individuos que mostraban evidencia genética de ser migrantes de primera generación provenientes de un sitio distinto de donde fueron muestreados empleando un método de asignación de máxima verosimilitud con el software GENODIVE 3.03 (Meirmans and Van Tienderen, 2004; Paetkau et al., 2004). Las tasas de migración direccional entre sitios muestreados fueron estimadas a partir de los valores de diferenciación genética con el software DIVMIGRATE (Sundqvist et al., 2016).

Se empleó un modelo oceanográfico tridimensional desarrollado para el Golfo de California y descrito previamente (Marinone, 2012) para estimar matrices de conectividad entre sitios debido a la dispersión de larvas por las corrientes marinas en dos temporadas: 1) cálida (primavera y verano, 2) fría (otoño e invierno). Las simulaciones se realizaron durante la marea viva y muerta de cada mes del año, considerando una duración de la larva pelágica de 2 semanas para *Megapitaria squalida*.

Principales resultados y sus implicaciones

Los resultados de la secuenciación genómica mostraron que las poblaciones de almeja chocolate *Megapitaria squalida* en Sinaloa presentan niveles bajos de diversidad genómica en general (1.29 alelos por loci, heterocigosidad esperada 4.4%, Tabla 4). Los cuatro sitios analizados dentro de Bahía Altata mostraron menos diversidad genómica (1.21 - 1.30 alelos por loci, heterocigosidad esperada 3.7% -3.8%) comparado a Topolobampo y Cerro Cabezón (1.24 - 1.38 alelos, heterocigosidad esperada 4.4%). La baja diversidad genómica puede estar asociada a ciclos de reclutamiento variable a partir de un pool limitado de reproductores (Eldon et al., 2016). Las estimaciones de tamaño efectivo poblacional (N_e) o el número teórico de reproductores que contribuyeron a la generación de individuos muestreados, indicó que dentro de Bahía Altata los sitios mas cercanos a la boca de la laguna (ALT 1-2 y 3) tienen tamaños efectivos relativamente mas grandes comparados a los sitios mas adentro de la laguna (ALT 4 y 5, Tabla 5). En comparación, Topolobampo y Cerro Cabezón presentan tamaños efectivos aún mayores a los sitios dentro de Bahía Altata.

Los seis sitios muestreados en la costa de Sinaloa mostraron niveles bajos pero estadísticamente significativos de diferenciación genética. El análisis de varianza molecular mostró que solo 1% de las diferencias en las frecuencias alélicas observadas son atribuibles a diferencias entre los sitios muestreados ($P = 0.001$, Tabla 6, Fig. 8) mientras que la mayor fuente de variación se encuentra dentro de los individuos (10%) y principalmente entre individuos (89%). Los valores de F'_{st} que muestran las diferencias en las frecuencias alélicas entre poblaciones variaron entre -0.012 y 0.01 (Tabla 7), indicando que existen diferencias muy sutiles en las frecuencias alélicas entre diferentes sitios. Los valores F'_{st} entre los cuatro sitios muestreados dentro de Bahía Altata tuvieron valores entre -0.002 y 0.001, lo cual implica que las sub-poblaciones de *M. squalida* dentro de Bahía Altata forman una sola población panmictica. Los valores F'_{st} entre los sitios dentro de la Bahía Altata y Topolobampo-Cerro Cabezón fueron en su mayoría comparativamente mas altos pero no significativos (-0.012 a 0.003 $P > 0.216$), con una sola excepción (ALT4 vs. Topolobampo, $F'_{st} = 0.01$, $P = 0.017$). El análisis de componentes principales no mostró ninguna agrupación evidente, sugiriendo que todos los individuos provienen de una misma población genética debido a la similitud de sus frecuencias alélicas (Fig. 9).

Los análisis de asignación de individuos identificaron un total de 12 individuos migrantes (que representan 10% de todos los individuos analizados) cuyos padres se encontraban en otra localidad y que llegaron a la localidad donde fueron muestreados como larvas (Tabla 8). Se encontraron cuatro eventos de migración entre los sitios dentro de Bahía Altata (Fig. 10), donde fue posible identificar que el sitio ALT4 actuó como una fuente de larvas para los sitios ALT3 y

ALT2. También fue posible identificar migración de larvas recíproca entre los sitios ALT5 y ALT3. En total se identificaron 2 eventos de migración de larvas desde Bahía Altata hacia Topolobampo, 3 eventos de migración desde Topolobampo hacia Bahía Altata y 1 evento desde Cerro Cabezón hacia Bahía Altata (Fig. 10). Adicionalmente se detectaron 2 eventos de migración de larvas de manera recíproca entre Topolobampo y Cerro Cabezón. Estos resultados demuestran que existe intercambio de larvas de manera frecuente entre los diferentes sitios dentro de Bahía Altata, la cual también exporta y recibe de manera regular larvas de sitios ubicados a ~150 km hacia el norte como Topolobampo y Cerro Cabezón. Los análisis genéticos permitieron identificar 2 pares de individuos como parientes en primer grado (Tabla 9). Estos individuos se infieren como hermanos (a diferencia de padre-hijo) debido a que sus tallas fueron muy similares. La primera pareja de almejas hermanas hijas de los mismos padres se encontraron dentro de Bahía Altata en los sitios ALT2 y ALT4. La segunda pareja de hermanos se colectaron en Bahía Altata y Cerro Cabezón. Estos resultados sugieren que las larvas que nacieron en un mismo evento reproductivo (pues sus padres son los mismos) pueden tomar rutas distintas y llegar a asentarse decenas o pocos cientos de kilómetros aparte debido a su transporte diferencial por las corrientes marinas. De manera similar, los análisis identificaron 15 pares de individuos relacionados en segundo grado (medios hermanos, abuelo-nieto, primos directos, etc.). Más de la mitad de estas parejas fueron encontradas dentro de Bahía Altata, y el resto entre Bahía Altata y Topolobampo-Cerro Cabezón. La presencia de varios parientes en primer y segundo grado sugiere que el transporte de larvas fácilmente puede ocurrir en la escala espacial en la que se tomaron las muestras (~150 km).

Las estimaciones de tasas de migración direccional mostraron de nuevo el sitio ALT4 dentro de Bahía Altata como la fuente de larvas mas importante, la cual presenta tasas de exportación relativamente altas (0.29 - 1.0, Fig. 11) a otros sitios dentro de Bahía Altata (ALT1-2, ALT3 y ALT5), y también exporta hasta Topolobampo. El sitio ALT5 fué identificado como un sumidero que recibe larvas de otros sitios dentro de Bahía Altata como ALT1 y ALT4, y de sitios más lejanos como Cerro Cabezón. Los valores de parentesco genético promedio dentro de cada sitio no mostraron evidencia de que exista un reclutamiento considerable de manera local de larvas dentro de cada sitio, pues los valores estimados fueron muy parecidos a los esperados bajo un esquema de reproducción al azar (Fig. 12). Solamente en dos sitios dentro de Bahía Altata (ALT1-2 y ALT4) se encontró poca evidencia, aunque estadísticamente significativa, de reclutamiento de larvas local ($P \leq 0.035$, Tabla 10). Estos resultados sugieren que las subpoblaciones de *M. squalida* dependen principalmente de la importación de larvas de otros sitios adyacentes en una escala de hasta ~150 km, y en menor medida del reclutamiento local de larvas que fueron producidas en el mismo sitio.

Las simulaciones oceanográficas de dispersión larvaria para el Golfo de California corroboraron que en la primavera y verano, es muy factible que Bahía Altata exporte y reciba larvas de sitios ubicados a 75 - 150 km al norte, incluyendo Topolobampo (Fig. 13). Los modelos oceanográficos sugieren que existe migración bi-direccional recíproca de sur a norte y de norte a sur a lo largo de la costa de Sinaloa durante la tempora cálida del año. En contraste, durante la tempora fría (otoño-invierno) el transporte de larvas sigue una dirección predominante hacia el sur, de manera que Bahía Altata puede recibir larvas de sitios ubicados hacia el Norte, ya sea directamente desde Topolobampo, o en mayor medida a través de sitios intermedios ubicados a ~75 km de distancia (Fig. 14).

En conclusión, las subpoblaciones muestreadas de *M. squalida* en la costa de Sinaloa pueden ser categorizadas como poblaciones locales que presentan un alto grado de conectividad dentro de una metapoblación, correspondiente a una estructura de stock D (MSC, 2014). En consecuencia, se recomienda prestar atención a la metapoblación en general, la cual de acuerdo a la evidencia presentada en este reporte se encontraría distribuída de manera inmediata ~150 km hacia el norte y ~150 km hacia el sur de Bahía Altata. La pesca o sobre-explotación de las poblaciones adyacentes hacia el norte y el sur afectaría la dinámica y el reclutamiento de larvas dentro de Bahía Altata. Se recomienda que la pesquería sea manejada y los puntos de referencia establecidos a la escala metapoblacional incluyendo las poblaciones dentro de Bahía Altata así como las poblaciones aledañas en la escala mencionada.

Tabla 4. Niveles de diversidad genómica (Error Estandar= SE): tamaño de muestra (N), número de alelos (Na), número de alelos efectivo (Ne), índice de información (I), heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He), heterocigosidad esperada con corrección por tamaño de muestra (uHe), e índice de fijación (F).

Pop		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
ALT1-2	Mean	18	1.218	1.049	0.066	0.025	0.037	0.039	0.201
	SE		0.024	0.007	0.008	0.004	0.005	0.005	0.024
ALT3	Mean	17	1.290	1.048	0.072	0.026	0.038	0.040	0.198
	SE		0.027	0.006	0.007	0.003	0.004	0.004	0.024
ALT4	Mean	26	1.307	1.045	0.067	0.026	0.035	0.036	0.163
	SE		0.027	0.007	0.007	0.003	0.004	0.004	0.022
ALT5	Mean	14	1.304	1.041	0.071	0.033	0.037	0.039	0.066
	SE		0.027	0.006	0.007	0.004	0.004	0.004	0.019
CABEZON	Mean	26	1.249	1.052	0.075	0.034	0.042	0.044	0.132
	SE		0.026	0.009	0.008	0.005	0.005	0.005	0.024
TOPO	Mean	19	1.389	1.053	0.082	0.034	0.043	0.044	0.115
	SE		0.029	0.006	0.008	0.004	0.004	0.005	0.020
TOTAL	Mean	20	1.293	1.048	0.072	0.030	0.039	0.040	0.142
	SE		0.011	0.003	0.003	0.002	0.002	0.002	0.009

Tabla 5. Tamaño efectivo poblacional (N_e) (Intervalo de confianza al 95%) estimado dentro de cada localidad con los métodos de desequilibrio gamético empleando frecuencias de alelos mayores a 0.05% (LDNE 0.05) y coancestría molecular. ∞ = infinito.

Sitio	Ne LD 0.05	Ne Coancestría
ALT 1-2	54.2 (13.5 - ∞)	1.4 (1 - 1.9)
ALT 3	∞ (35.7 - ∞)	82.6 (0.1 - 414.8)
ALT 4	13.6 (5.5 - 53.7)	0.8 (0.7 - 1.0)
ALT 5	14.1 (5.2 - 131.8)	1.4 (1 - 1.8)
TOPO	117 (23.4 - ∞)	1.8 (1.2 - 2.4)
CABEZON	∞ (25.9 - ∞)	1.9 (1.0 - 3.0)

Tabla 6. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) entre localidades.

Fuente	df	SS	MS	Est. Var.	%
Among Pops	5	478.691	95.738	0.423	1%
Among Indiv	114	9005.651	78.997	37.748	91%
Within Indiv	120	420.000	3.500	3.500	8%
Total	239	9904.342		41.671	100%

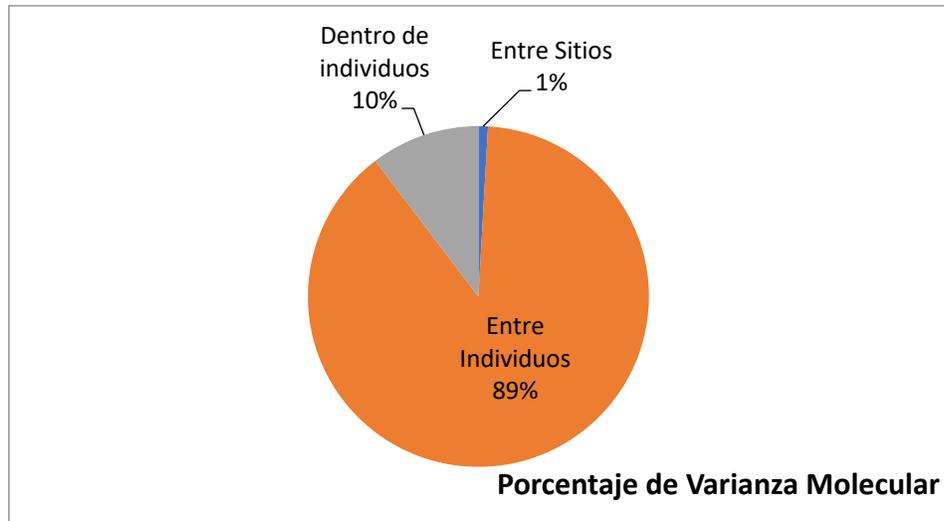


Figura 8. Gráfica de pie mostrando los resultados del análisis de varianza molecular. El valor global de $F_{st} = 0.01$ fue estadísticamente significativo ($P = 0.001$).

Tabla 7. Valores pareados estandarizados de diferenciación genética (valores F'_{st} arriba de la diagonal) y valores P (debajo de la diagonal).

Sitios	ALT1-2	ALT3	ALT4	ALT5	TOPO	CABE
ALT1-2	--	-0.001	-0.002	-0.001	0.003	0.003
ALT3	0.528	--	-0.002	0.001	0.003	0.003
ALT4	0.533	0.638	--	-0.002	0.01	0.003
ALT5	0.484	0.432	0.539	--	-0.007	-0.012
TOPO	0.298	0.241	0.017	0.831	--	-0.002
CABE	0.293	0.278	0.216	0.954	0.606	--

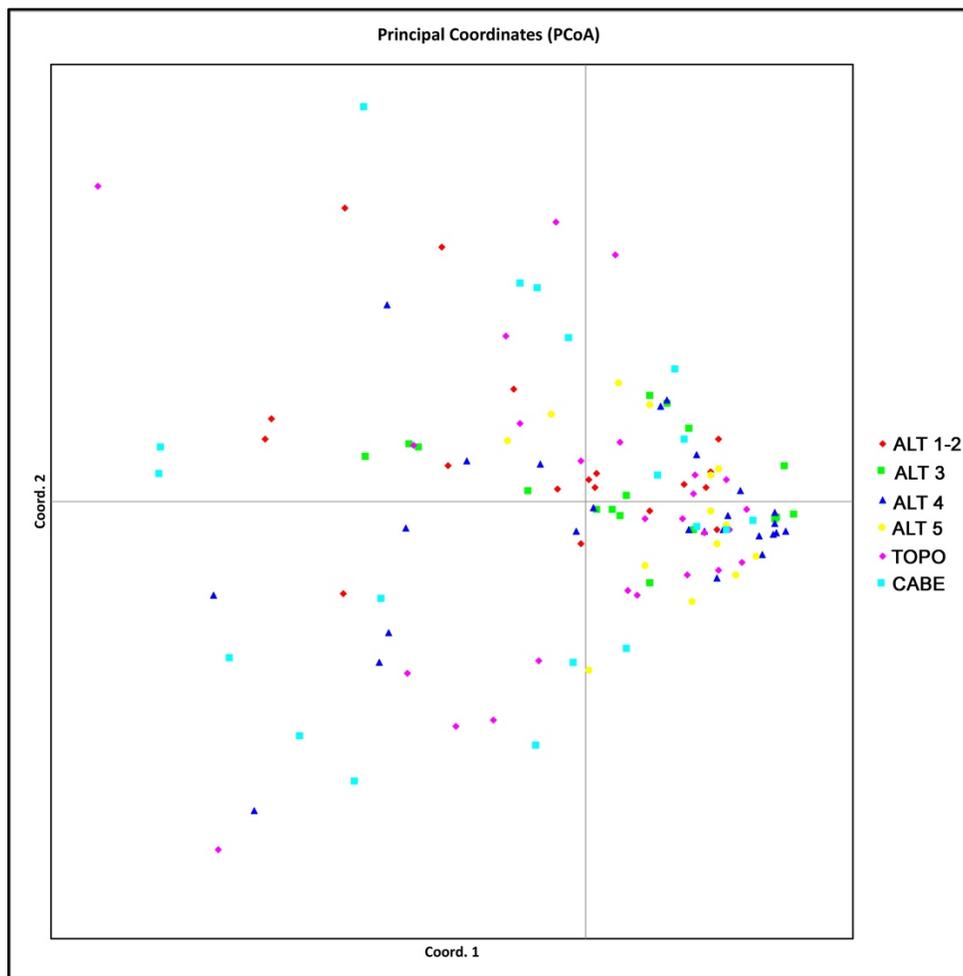


Figura 9. Resultados del análisis de componentes principales (PCA) mostrando la similitud de las frecuencias alélicas entre individuos colectados en los seis sitios distintos.

Tabla 8. Identificación de 12 individuos migrantes de primera generación.

#	Individuo	Sitio Muestreo	Sitio Natal	Lik_max	Lik_home	Lik_ratio	Threshold
1	ALT1-2_5	ALT1-2	ALT4	-65.643	-83.342	35.398	-67.137
2	ALT3_5	ALT3	ALT5	-91.646	-93.336	3.38	-67.137
3	ALT3_13	ALT3	CABEZON	-53.676	-76.963	46.574	-67.137
4	ALT3_14	ALT3	ALT4	-71.697	-77.663	11.931	-67.137
5	ALT4_9	ALT4	TOPO	-63.022	-77.978	29.91	-67.137
6	ALT5_2	ALT5	TOPO	-90.315	-93.533	6.436	-67.137
7	ALT5_5	ALT5	ALT3	-68.191	-85.226	34.069	-67.137
8	ALT5_7	ALT5	TOPO	-66.637	-81.899	30.525	-67.137
9	TOPO_10	TOPO	ALT4	-78.338	-89.133	21.59	-67.137
10	TOPO_15	TOPO	CABEZON	-59.912	-67.873	15.921	-67.137
11	TOPO_18	TOPO	ALT3	-53.812	-69.337	31.05	-67.137
12	CABEZON_2	CABEZON	TOPO	-73.832	-83.334	19.004	-67.137

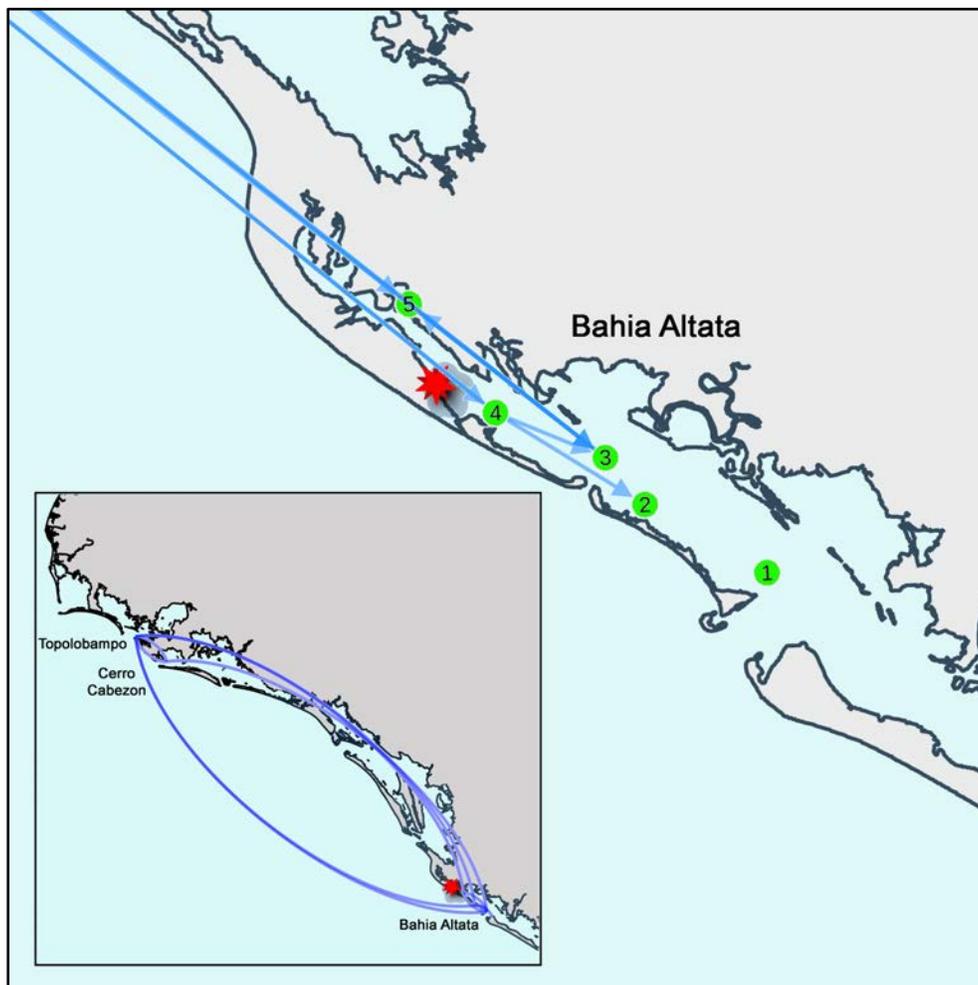


Figura 10. Eventos de migración de larvas identificados entre los cinco sitios muestreados dentro de Bahía Altata (ver Tabla 7). El recuadro muestra los eventos de migración identificados entre Bahía Altata y Topolobampo-Cerro Cabezón, respectivamente. La estrella roja representa la ubicación del refugio pesquero dentro de Bahía Altata.

Tabla 9. Dos pares de individuos identificados como parientes de primer grado y 15 pares de individuos identificados como parientes en segundo grado. Se muestra el número del individuo y el sitio donde fue muestreado. En el caso de parientes de primer grado se indica la talla de los individuos que permite inferir que se trata de hermanos y no padre-hijo.

#	Primer grado			Relación parentesco
	Individuo 1	Individuo 2	Probabilidad	
1	24 ALT 2 (4.2cm)	72 ALT 4 (5.5 cm)	0.762	Hermanos de los mismos padres
2	106 ALT 5 (6.2 cm)	189 CABEZON (7.4 cm)	0.936	Hermanos de los mismos padres
Segundo grado				
1	35 ALT3	62 ALT4	0.913	
2	16 ALT2	56 ALT3	0.860	
3	96 ALT5	181 CABEZON	0.860	
4	161 CABEZON	21 ALT2	0.842	
5	58 ALT3	49 ALT3	0.836	
6	34 ALT3	40 ALT3	0.817	
7	15 ALT2	08 ALT2	0.799	
8	46 ALT3	128 TOPOLOBAMPO	0.796	
9	46 ALT3	61 ALT4	0.786	
10	45 ALT3	107 ALT5	0.783	
11	97 ALT5	144 TOPOLOBAMPO	0.772	
12	190 CABEZON	192 CABEZON	0.771	
13	103 ALT5	181 CABEZON	0.761	
14	45 ALT3	99 ALT5	0.759	
15	34 ALT3	188 CABEZON	0.758	

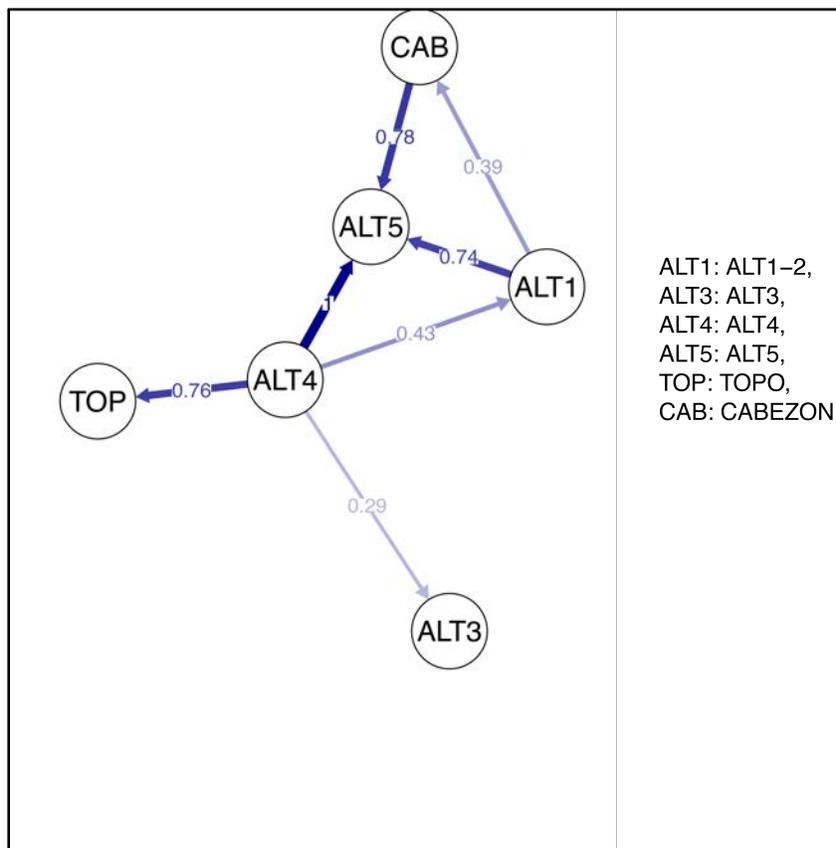


Figura 11. Tasas de migración direccional estimadas entre localidades a partir de las estimaciones de diferenciación genética.

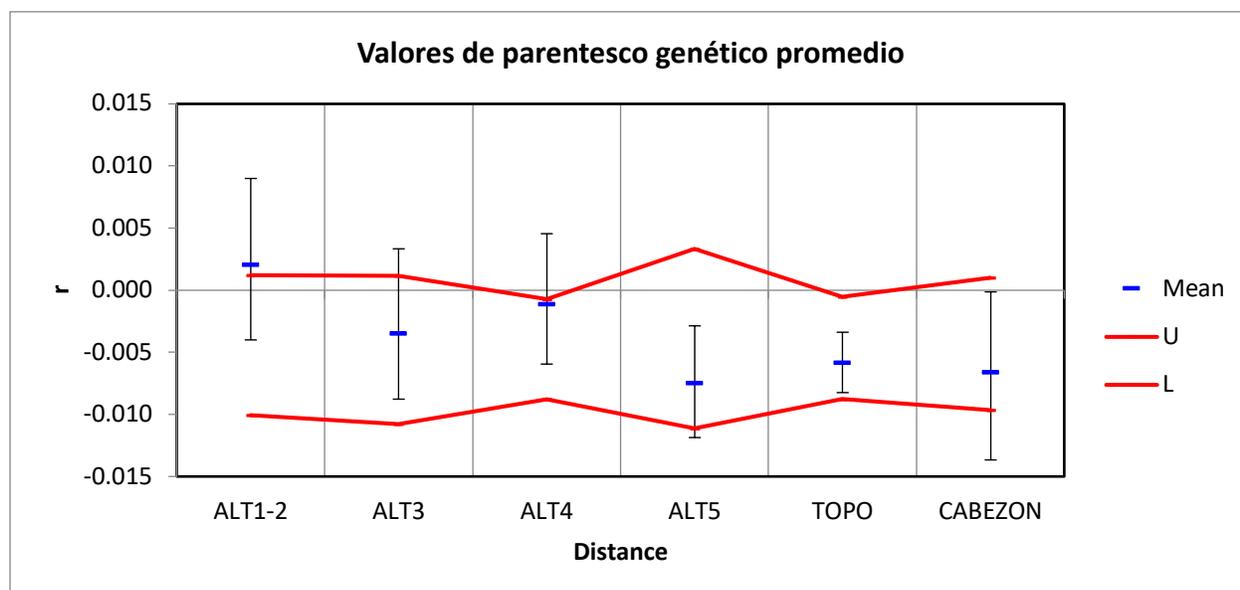


Figura 12. Valores de parentesco genético promedio (r) dentro de cada localidad (\pm Intervalo de Confianza al 95%). Las líneas rojas indican el rango superior (U) inferior (L) de los valores esperados bajo un esquema de reproducción al azar dentro de cada población, de acuerdo a un análisis de re-muestreo (bootstrap) con 1,000 réplicas.

Tabla 10. Valores de probabilidad de que los valores estimados de parentesco genético promedio (r) sean mayores o menores a lo esperado bajo un esquema de reproducción al azar (ver Fig. 12).

Pop	ALT1-2	ALT3	ALT4	ALT5	TOPO	CABEZON
Mean	0.002	-0.003	-0.001	-0.007	-0.006	-0.007
U	0.001	0.001	-0.001	0.003	-0.001	0.001
L	-0.010	-0.011	-0.009	-0.011	-0.009	-0.010
P(mean-rand \geq mean-data)	0.016	0.263	0.035	0.757	0.647	0.708
P(mean-rand \leq mean-data)	0.985	0.738	0.966	0.244	0.354	0.293

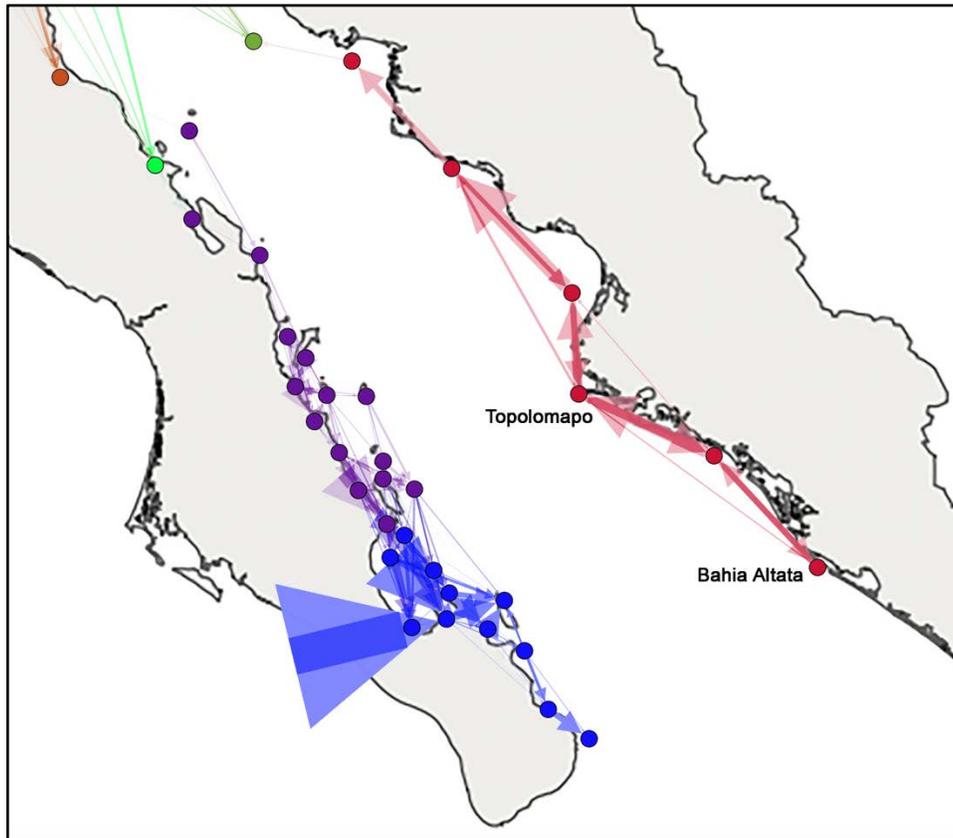


Figura 13. Conectividad de larvas entre sitios de acuerdo a un modelo oceanográfico tridimensional de las corrientes del Golfo de California para la temporada cálida (primavera y verano), considerando una duración larvaria de 14 días para *Megapitaria squalida*. El grosor de las líneas es proporcional a la probabilidad de las conexiones.

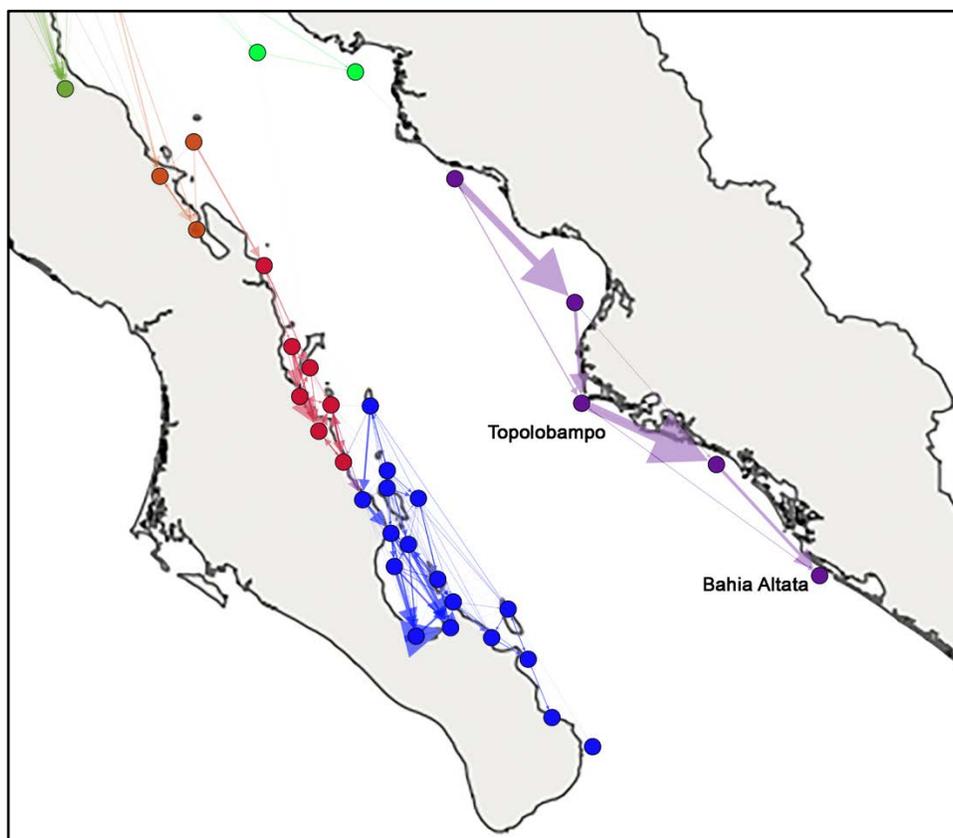


Figura 14. Conectividad de larvas entre sitios de acuerdo a un modelo oceanográfico tridimensional de las corrientes del Golfo de California para la temporada fría (otoño e invierno), considerando una duración larvaria de 14 días para *Megapitaria squalida*. El grosor de las líneas es proporcional a la probabilidad de las conexiones.

Referencias

- Alberto Mares-Mayagoitia, J., J. A. De-Anda-Montañez, R. Perez-Enriquez, P. Mejía-Ruíz, J. L. Gutiérrez-González, F. Valenzuela-Quiñonez. 2021. Neutral and adaptive population structure of pink abalone (*haliotis corrugata*): Fishery management implications. *ICES Journal of Marine Science*.10.1093/icesjms/fsab098
- Alvarez-Dagnino, E., A. Santamaria-Miranda, M. García-Ulloa, A. M. Gongora-Gomez. 2017. Reproduction of megapitaria squalida (bivalvia: Veneridae) in the southeast gulf of california, mexico. *Revista de Biología Tropical*, 65: 881-889
- Asch, R. G. 2015. Climate change and decadal shifts in the phenology of larval fishes in the california current ecosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences*: E4065-E4074
- Catchen, J., P. A. Hohenlohe, S. Bassham, A. Amores, W. A. Cresko. 2013. Stacks: An analysis tool set for population genomics. *Molecular ecology*, 22: 3124-3140.10.1111/mec.12354
- Cisneros-Mata, M. Á., A. Munguía-Vega, D. Rodríguez-Félix, E. A. Aragón-Noriega, J. M. Grijalva-Chon, J. A. Arreola-Lizárraga, L. A. Hurtado. 2019. Genetic diversity and metapopulation structure of the brown swimming crab (*callinectes bellicosus*) along the coast of sonora, mexico: Implications for fisheries management. *Fisheries Research*, 212: 97-106.10.1016/j.fishres.2018.11.021
- Cowen, R. K., S. Sponaugle. 2009. Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review of Marine Science*, 1: 443-466.10.1146/annurev.marine.010908.163757
- Do, C., R. S. Waples, D. Peel, G. M. Macbeth, B. J. Tillett, J. R. Ovenden. 2013. Neestimator v2: Re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (ne) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14: 209-214.10.1111/1755-0998.12157
- DOF. 2018. Acuerdo por el que se establece una zona de refugio pesquero total permanente en aguas marinas de jurisdicción federal del sistema lagunar bahía de altata-ensenada del pabellón, adyacentes al municipio de navolato, en el estado de sinaloa. *Diario Oficial de la Federación*, 24 Abril 2018.,
- DOF. 2019. Acuerdo por el que se da a conocer el plan de manejo pesquero ecosistémico del sistema lagunar altata-ensenada del pabellón, ubicado en los municipios de navolato y culiacán, del estado de sinaloa. *Diario Oficial de la Federación*, 24 Septiembre 2019.,
- DOF. 2020. Acuerdo por el que se establece veda temporal para la captura de almeja chocolata (*megapitaria squalida*) en el sistema lagunar altata-ensenada del pabellón, en los municipios de navolato y culiacán, sinaloa. *Diario Oficial de la Federación*, 30 de Abril 2020.,
- Ekblom, R., J. Galindo. 2011. Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity*, 107: 1-15.10.1038/hdy.2010.152
- Eldon, B., F. Riquet, J. Yearsley, D. Jollivet, T. Broquet. 2016. Current hypotheses to explain genetic chaos under the sea. *Current Zoology*, 62: 551-566.10.1093/cz/zow094
- Goethel, D. R., A. M. Berger. 2017. Accounting for spatial complexities in the calculation of biological reference points: Effects of misdiagnosing population structure for stock status indicators. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 74: 1878-1894.10.1139/cjfas-2016-0290

- Jones, O. R., J. Wang. 2010. Colony: A program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources*, 10: 551-555.10.1111/j.1755-0998.2009.02787.x
- Kerr, L. A., N. T. Hintzen, S. X. Cadrin, L. W. Clausen, M. Dickey-Collas, D. R. Goethel, E. M. C. Hatfield, J. P. Kritzer, R. D. M. Nash. 2017. Lessons learned from practical approaches to reconcile mismatches between biological population structure and stock units of marine fish. *ICES Journal of Marine Science*, 74: 1708-1722.10.1093/icesjms/fsw188
- Lynch, M., K. Ritland. 1999. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. *Genetics*, 152: 1753-1766
- Marinone, S. G. 2012. Seasonal surface connectivity in the gulf of california. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 100: 133-141.10.1016/j.ecss.2012.01.003
- Meirmans, P. G., P. W. Hedrick. 2011. Assessing population structure: F(st) and related measures. *Molecular Ecology Resources*, 11: 5-18.10.1111/j.1755-0998.2010.02927.x
- Meirmans, P. G., P. H. Van Tienderen. 2004. Genotype and genodive: Two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4: 792-794.10.1111/j.1471-8286.2004.00770.x
- Mejía-Ruíz, P., R. Perez-Enriquez, J. A. Mares-Mayagoitia, F. Valenzuela-Quíñonez. 2020. Population genomics reveals a mismatch between management and biological units in green abalone (*haliotis fulgens*). *PeerJ*, 8.10.7717/peerj.9722
- Miller, S. A., D. D. Dykes, H. F. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16: 1215
- MSC. 2014. *Msc fisheries certification requirements and guidance v2.0*. 540 pp pp.
- Munguia-Vega, A., A. L. Green, A. N. Suarez-Castillo, M. J. Espinosa-Romero, O. Aburto-Oropeza, A. M. Cisneros-Montemayor, G. Cruz-Piñón, D. G. Danemann, A. Giron-Nava, O. T. Gonzalez-Cuellar, C. Lasch, M. M. Mancha-Cisneros, S. G. Marinone, M. Moreno-Baez, H. Morzaria-Luna, H. Reyes-Bonilla, J. Torre, P. Turk-Boyer, M. Walther, A. W. Hudson. 2018a. Ecological guidelines for designing networks of marine reserves in the unique biophysical environment of the gulf of california. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 28: 749-776.10.1007/s11160-018-9529-y
- Munguia-Vega, A., A. Jackson, S. G. Marinone, B. Erisman, M. Moreno-Baez, A. Giron, T. Pfister, O. Aburto-Oropeza, J. Torre. 2014. Asymmetric connectivity of spawning aggregations of a commercially important marine fish using a multidisciplinary approach. *PeerJ* 2: e511
- Munguia-Vega, A., I. Leyva-Valencia, D. B. Lluch-Cota, P. Cruz-Hernández. 2015a. Genetic structure of cortes geoduck clam *panopea globosa* dall 1898 from the mexican northwest. *Journal of Shellfish Research*, 34: 153-161.10.2983/035.034.0119
- Munguia-Vega, A., S. G. Marinone, D. A. Paz-Garcia, A. Giron-Nava, T. Plomozo-Lugo, O. Gonzalez-Cuellar, A. H. Weaver, F. J. García-Rodríguez, H. Reyes-Bonilla. 2018b. Anisotropic larval connectivity and metapopulation structure driven by directional oceanic currents in a marine fish targeted by small-scale fisheries. *Marine biology*, 165: 16
- Munguia-Vega, A., A. Saenz-Arroyo, A. P. Greenley, J. A. Espinoza-Montes, S. R. Palumbi, M. Rossetto, F. Micheli. 2015b. Marine reserves help preserve genetic diversity after impacts derived from climate variability: Lessons from the pink abalone in baja california. *Global Ecology and Conservation*, 4: 264-276.10.1016/j.gecco.2015.07.005

- Okamoto, D. K., M. Hessing-Lewis, J. F. Samhuri, A. O. Shelton, A. Stier, P. S. Levin, A. K. Salomon. 2020. Spatial variation in exploited metapopulations obscures risk of collapse. *Ecological Applications*, 30: e02051
- Paetkau, D., R. Slade, M. Burdens, A. Estoup. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: A simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology*, 13: 55-65.10.1046/j.1365-294X.2003.02008.x
- Paez-Osuna, F., J. A. Sanchez-Cabeza, A. C. Ruiz-Fernandez, R. Alonso-Rodriguez, A. Piñon-Gimate, J. G. Cardoso-Mohedano, F. J. Flores-Verdugo, J. L. Carballo, M. A. Cisneros-Mata, S. Alvarez-Borrego. 2016. Environmental status of the gulf of california: A review of responses to climate change and climate variability. *Earth-Science Reviews*, 162: 253-268.10.1016/j.earscirev.2016.09.015
- Peakall, R., P. E. Smouse. 2012. Genalex 6.5: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.10.1093/bioinformatics/bts460
- Pershing, A. J., M. A. Alexander, C. M. Hernandez, e. al. 2015. Slow adaptation in the face of rapid warming leads to collapse of the gulf of maine cod fishery. *Science*, 350: 809-812
- Peterson, B. K., J. N. Weber, E. H. Kay, H. S. Fisher, H. E. Hoekstra. 2012. Double digest radseq: An inexpensive method for de novo snp discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS one*, 7: e37135.10.1371/journal.pone.0037135.g001
- Pinsky, M. L., S. R. Palumbi. 2014. Meta-analysis reveals lower genetic diversity in overfished populations. *Molecular ecology*, 23: 29-39.10.1111/mec.12509
- Reguera-Rouzaud, N., N. Díaz-Viloria, L. Sánchez-Velasco, A. L. Flores-Morales, A. Parés-Sierra, O. Aburto-Oropeza, A. Munguía-Vega. 2020. Yellow snapper (*lutjanus argentiventris*) connectivity in the southern gulf of california. *Marine Biodiversity*, 50.10.1007/s12526-020-01070-y
- Soria, G., A. Munguía-Vega, S. Marinone, M. Moreno-Báez, I. Martínez-Tovar, R. Cudney-Bueno. 2012. Linking bio-oceanography and population genetics to assess larval connectivity. *Marine Ecology Progress Series*, 463: 159-175
- Soria, G., J. Torre-Cosio, A. Munguia-Vega, S. G. Marinone, M. F. Lavín, A. Cinti, M. Moreno-Báez. 2014. Dynamic connectivity patterns from an insular marine protected area in the gulf of california. *Journal of Marine Systems*, 129: 248-258.10.1016/j.jmarsys.2013.06.012
- Sundqvist, L., K. Keenan, M. Zackrisson, P. Prodohl, D. Kleinhans. 2016. Directional genetic differentiation and relative migration. *Ecology and Evolution*, 6: 3461-3475.10.1002/ece3.2096