

Elaboró: airdrian@arizona.edu (4 Julio 2020)

Título del proyecto:

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

Adrian Munguia-Vega (University of Arizona)

Introducción

La presente propuesta representa el primer estudio sobre estructura genética poblacional y conectividad de la almeja chocolata *Megapitaria squalida*, una especie comercialmente importante en México. La almeja chocolata 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 planktónica. 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 Mexico 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), la almeja generosa (Munguia-Vega et al., 2015a), el huachinango (Munguia-Vega et al., 2018b) y la jaiba (Cisneros-Mata et al., 2019).

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 esta 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 terminos 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 mas 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 de 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 chocolate (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 se sustentará en una metodología novedosa y relativamente reciente (ddRAD-Seq) que permitirá obtener una gran cantidad de información genómica de los organismos y descubrir y obtener marcadores tipo SPNs. De esta manera, será posible llevar a cabo un análisis de la variabilidad genética y diferenciación poblacional. Los resultados obtenidos a partir del desarrollo del presente estudio generarán conocimiento cuya aplicación futura puede vislumbrarse en distintas vertientes. Aportarán 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 se podrá en un futuro entablar la relación entre el reclutamiento (vía análisis genómico de juveniles) 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 dinamica 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.

Metodología***Colecta de individuos en campo***

Se pretende obtener muestras de cuando menos seis localidades: cuatro ubicadas en el interior del complejo lagunar Altata-Ensenada del Pabellón y dos en sitios adyacentes al norte (Cerro Cabezón) y sur (Ceuta) de dicho complejo (Figura 1). Los sitios propuestos dentro del complejo lagunar Altata-Ensenada del Pabellón están ubicados en la zona Norte, Centro y Sur de Bahía Altata, y uno de ellos se realizaría en una zona adyacente al refugio pesquero (por ejemplo, ubicada ~100 m por fuera del límite del refugio). De cada sitio, se obtendrán 35 individuos de almeja chocolata (35 individuos X 6 localidades = 210 individuos muestreados en total). Los muestreos se realizarán mediante recolecta manual con ayuda de pescadores locales. Cada individuo de almeja será medido (longitud total, altura total) con ayuda de un calibrador vernier, y posteriormente disectado con ayuda de un bisturí para tomar 0.5 cm³ de tejido del pie y del musculo abductor. Los tejidos serán fijados durante 12 horas en etanol al 70% y posteriormente secados en tubos Falcon de 15ml que contengan ~5ml de perlas de sílice como desecante. Las muestras secas serán transportadas al laboratorio del Dr. Adrian Munguía-Vega en la ciudad de La Paz, BCS, México, donde serán procesadas.

Construcción de librería genómica para identificación de marcadores SNPs

Los análisis serán basados en el empleo de marcadores moleculares del polimorfismo de una sola base (SNPs) neutrales. Se empleará 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 en una gran cantidad (~1,000) marcadores SNPs ubicados a lo largo del genoma. Se tiene contemplado analizar ~210 individuos de *M. squalida*. Se obtendrá los ADNs

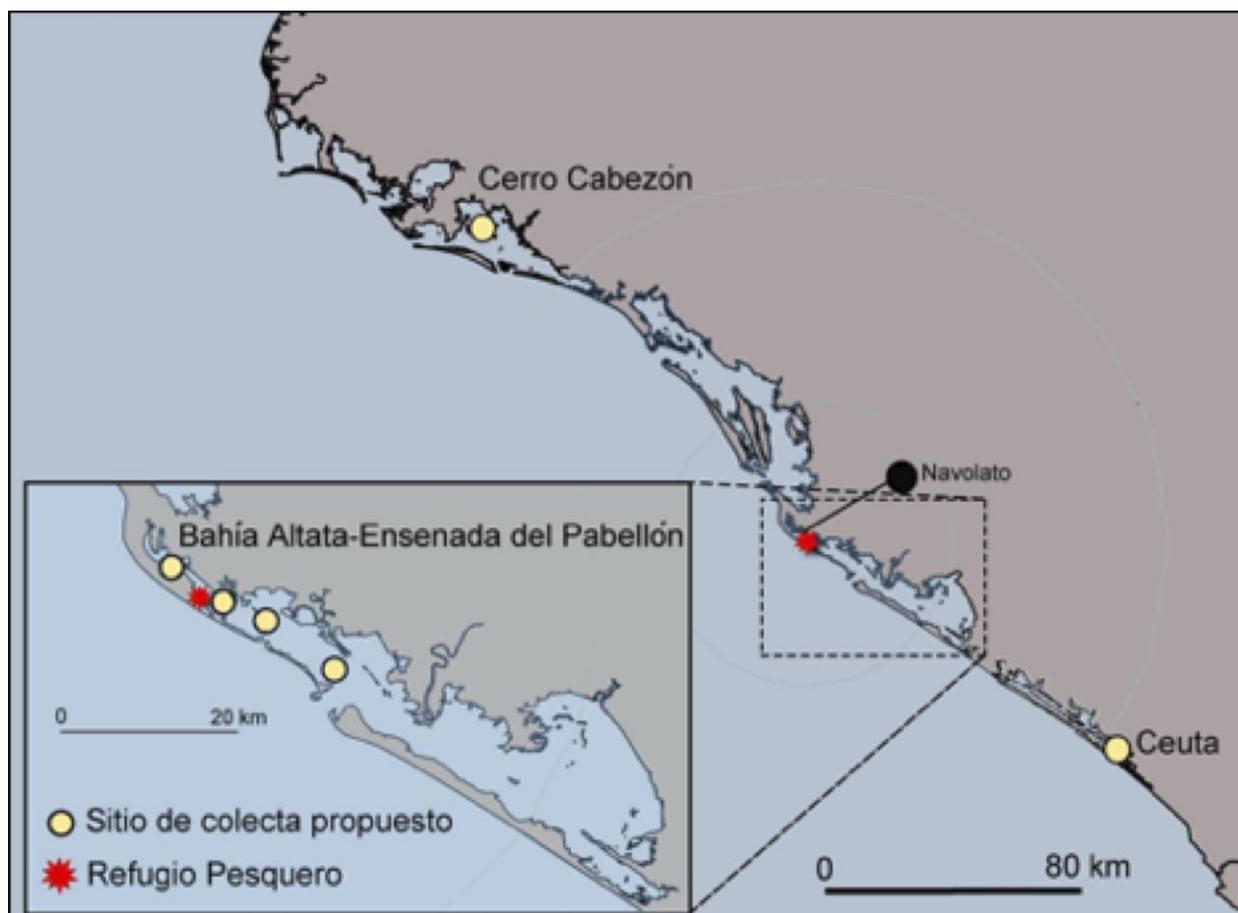


Figura 1. Area de estudio y ubicación de sitios de colecta propuestos

genómicos por medio del método de sales (Miller et al., 1988). Posteriormente, se llevará a cabo la digestión doble de 200-500 ng de ADN de cada individuo con las enzimas de restricción *EcoRI* y *MSpi* (New England Biolabs). Las digestiones serán purificadas con un volumen 1.5X de perlas (AMPure XP beads) empleando un dispositivo de separación magnético (MagnaBot II). Se estimará la concentración del ADN digerido a partir del QUBIT y posteriormente se realizará la ligación de adaptadores específicamente diseñados para unirse a los extremos cohesivos resultantes de la digestión de las enzimas de restricción. Se emplearán 48 adaptadores con un código de barras único (P1, alineando los oligos 1.1 y 1.2-fosforilado en un radio 1:1 y calentándolos a 97° C 3 min) y el adaptador común P2 (alineando los oligos 2.1 y 2.2-fosforilado y biotinilado, respectivamente). Los adaptadores serán ligados en una concentración 10 veces mayor que los fragmentos de ADN producidos con extremos cohesivos en presencia de la enzima T4 DNA ligasa a una temperatura de 23° C por 30 min, seguidos de 65° C por 10 min para inactivar la enzima. Los DNAs individuales marcados con un código de barras distinto serán mezclados en concentraciones equimolares para crear un pool de 48 individuos. En cada pool distinto, los

fragmentos de ADN cortos y el exceso de adaptadores serán removidos con perlas paramagnéticas (AMPure XP) y los fragmentos resultantes eluidos en 30 μ l. Se realizará 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 serán amplificadas por cuadruplicado mediante 8 ciclos de PCR con el kit Phusion Polymerase (NEB) para aumentar su concentración e incluir las secuencias de alienación de celdas y los primers de secuenciación Illumina. Además, el primer reverse (PCR2) incluirá un índice adicional (12 en total) que permitirá identificar cada uno de los pools que contienen 48 códigos de barras distintos, permitiendo así la identificación de las variantes de cada uno de los individuos. Las reacciones serán combinadas, purificadas con perlas paramagnéticas (AMPure XP), cuantificadas en el QUBIT Y Agilent Bioanalyzer para determinar molaridad y la distribución del tamaño de los fragmentos y posteriormente las muestras con distintos índices introducidos mediante PCR serán combinadas en concentraciones equimolares. Las librerías resultantes serán secuenciadas cada una en una línea de secuenciación Illumina HiSeq 2500 (University of Arizona Genetic Core) para producir ~250 millones de secuencias pareadas de ~150 pb por fragmento (~1 Millón de secuencias por individuo).

Análisis bioinformáticos y estadísticos

Las secuencias resultantes del ddRAD-Seq serán separadas bioinformáticamente con el programa dDocent (Puritz et al., 2014). Se recortarán las secuencias aplicando un criterio de calidad de phred de 20, y se eliminarán las secuencias de los adaptadores. Las lecturas individuales serán agrupadas en regiones homólogas (*loci*) *de-novo* con una cobertura mínima de 10X para la identificación de SNPs. Los sitios polimórficos serán filtrados para extraer solo aquellos sitios con genotipos confiables (scala de phred 20) y asignados a >95% de los individuos muestreados. Se removerán sitios en los que la frecuencia del alelo menos frecuente sea menor o igual a 2.5% y aquellos loci que muestren desviaciones significativas al equilibrio de Hardy Weinberg.

Los genotipos obtenidos de cada individuo con el programa dDocent (Puritz *et al.*, 2014), serán exportados al programa GenePop (Rousset, 2008) para el cálculo de estadísticas descriptivas de variación y estructura genética, incluyendo diversidad alélica, desequilibrio de ligamiento para identificar regiones genómicas bajo selección balanceadora o divergente, heterocigosidad y valores *Fst* globales y pareados localidades. Para determinar la cantidad de variabilidad genética contenida dentro y entre localidades se realizará un AMOVA con el programa Arlequín 3.1. (Excoffier and Lischer, 2010). También, se verificará la estructura genética a partir de estimaciones del índice de fijación *Fst* de manera pareada entre cohortes y localidades empleando el mismo programa. Se realizará una corrección de Bonferroni para ajustar el nivel de significancia afectado por las comparaciones múltiples. Usando métodos bayesianos se inferirá el número de poblaciones (K) también a partir de la información de los genotipos de múltiples *loci* de cada individuo tratando de agrupar a las poblaciones y cohortes que se encuentren en equilibrio de Hardy-Weinberg y con equilibrio de ligamiento, considerando solo aquellos marcadores que no se encuentran ligados (físicamente cercanos en el mismo cromosoma). Se utilizarán los programas FastStructure (Raj et al., 2015) y Admixture (Alexander et al., 2009) que

siguen la aproximación previamente descrita para inferir el número de clusters genéticos en individuos genotipados para miles de SNPs. Empleando dDocent, se identificarán también SNPs fijos dentro de cada población y variables entre poblaciones. Se empleará el programa NeEstimator (Do et al., 2013) para la estimación de los tamaños efectivos de cada cohorte, localidad y especie, empleando los marcadores neutrales que no estén ligados.

Emplearemos las rutas de mezclas genéticas (admixture tracks), o la reconstrucción de la historia de recombinación de cromosomas ancestrales en una población para determinar la distribución de la longitud de segmentos de cromosomas de mismo origen ancestral a través de la fase de haplotipos en cromosomas, la cual contiene información acerca de las tasas de migración reciente entre poblaciones (Leitwein et al., 2019). Las relaciones de parentesco entre pares de individuos (Padre-hijo, hermanos, medios hermanos, etc), las cuales se relacionan directamente con los niveles de retención local dentro de una población, así como brindan evidencia directa del transporte larvario entre localidades, se estimarán con el programa ERSA 2.0 (Li et al., 2014) entre cohortes y localidades. Emplearemos el programa ONCOR (Anderson et al., 2008) para realizar pruebas de asignación de individuos a poblaciones/stocks para identificar individuos migrantes entre localidades y estimar la contribución de distintos stocks a las muestras de las distintas cohortes dentro de cada especie.

Referencias

- Alexander, D. H., J. Novembre, K. Lange. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome research*, 19, 1655-1664.
- Alvarez-Dagnino, E., A. Santamaria-Miranda, M. Garcia-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.
- Anderson, E. C., R. S. Waples, S. T. Kalinowski. 2008. An improved method for predicting the accuracy of genetic stock identification. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 65, 1475-1486.
- 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.
- 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.
- Cowen, R. K., S. Sponaugle. 2009. Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review of Marine Science*, 1, 443-466.
- 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 (N_e) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14, 209-214.
- 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.
- Excoffier, L., H. E. Lischer. 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.
- 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.
- 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.
- Leitwein, M., M. Duranton, Q. Rougemont, P. A. Gagnaire, L. Bernatchez. 2019. Using haplotype information for conservation genomics. Trends Ecol Evol.
- Li, H., G. Glusman, H. Hu, Shankaracharya, J. Caballero, R. Hubley, D. Witherspoon, S. L. Guthery, D. E. Mauldin, L. B. Jorde, L. Hood, J. C. Roach, C. D. Huff. 2014. Relationship estimation from whole-genome sequence data. PLoS Genet, 10, e1004144.
- Marinone, S. G. 2012. Seasonal surface connectivity in the Gulf of California. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 100, 133-141.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Pinsky, M. L., S. R. Palumbi. 2014. Meta-analysis reveals lower genetic diversity in overfished populations. *Molecular ecology*, 23, 29-39.
- Puritz, J. B., C. M. Hollenbeck, J. R. Gold. 2014. Ddocent: A radseq, variant-calling pipeline designed for population genomics of non-model organisms. *PeerJ*, 2, e431.
- Raj, A., M. Stephens, J. K. Pritchard. 2015. Faststructure: Variational inference of population structure in large snp datasets. *Genetics*, In-press.
- Rousset, F. 2008. Genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for windows and linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 103-106.
- 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.