



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

Muñoz
2020-2021

**CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE LAS
POBLACIONES DEL MAHI-MAHI *CORYPHAENA
HIPPURUS*, EN EL PACÍFICO ORIENTAL:
SENTANDO LAS BASES PARA EL DISEÑO DE
ESTRATEGIAS DE ADMINISTRACIÓN**

PARTICIPANTES

UNAM-MÉXICO

Pindaro Díaz Jaimes
Adan Fernando Mar Silva
Maried Ochoa Zavala

CICIMAR-MÉXICO

Sofia Ortega Garcia
Ulianov Jakes Cota

IMARPE-PERÚ

Giovanna Sotil
Ana Alegre
Paul Guarnizo
José Puchulán
Felipe Paiva
Amado Che

IPIAP-ECUADOR

Esteban Elias

INCOPECA-COSTA RICA

Jose Miguel Carvajal

Revisado por: Francisco García

Este documento fue diseñado y diagramado gracias al apoyo del proyecto Cadenas Mundiales Sostenibles de Productos de Mar, una iniciativa interregional implementada por los Ministerios y Oficinas de Pesca y Planificación de Costa Rica, Ecuador, Filipinas e Indonesia, con apoyo técnico del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD); facilitado por Sustainable Fisheries Partnership (SFP); y financiado por el Fondo para el Medio Ambiente Mundial (FMAM). La Fundación de la Familia Walton amablemente facilitó el co-financiamiento para cubrir el trabajo en Perú del presente estudio.



Con el apoyo de

Cadenas Mundiales
Sostenibles
de productos del mar



gef
GLOBAL ENVIRONMENT FACILITY
INVESTING IN OUR PLANET

WALTON FAMILY
FOUNDATION



CONTENIDO



I. INTRODUCCION

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 microsátelites.

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 microsátelites 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 microsátelites 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)	15	81-92	8	61-64	5	18
Pucusana, Perú (PUC)	20	75-85	-	-	5	15
Oceánica (OC)	10	80-128	20	39-49	10	20

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: Clal, 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 Clal 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 μ l 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

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 heterocigosis 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

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.

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 270 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 270 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 270 individuos secuenciados y filtrando un SNP por locus al azar; 2) con los mismos 270 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 270 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 (270), 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.

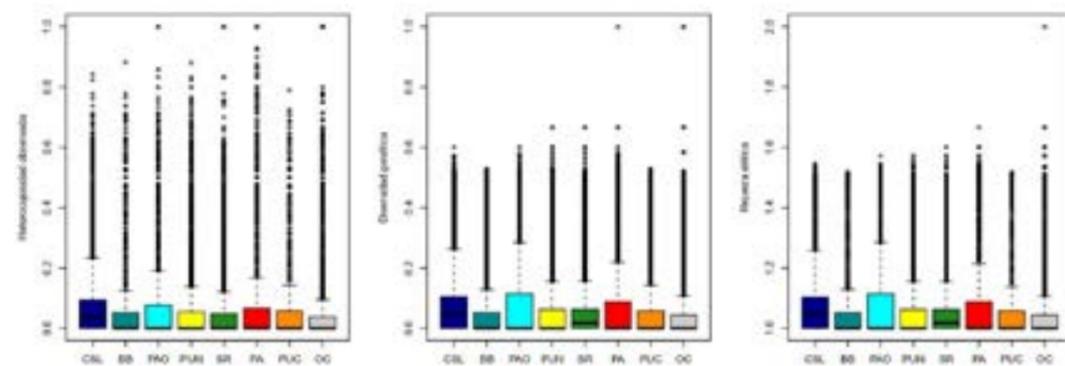


Figura 2. Estimados de diversidad genética de todos los individuos de mahi-mahi, *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Oriental. De izquierda a derecha: heterocigosidad observada (H_o), la diversidad genética (H_s), y riqueza alélica (A_r). CSL, Cabo San Lucas (norte de México); BB, Bahía Banderas (centro 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.

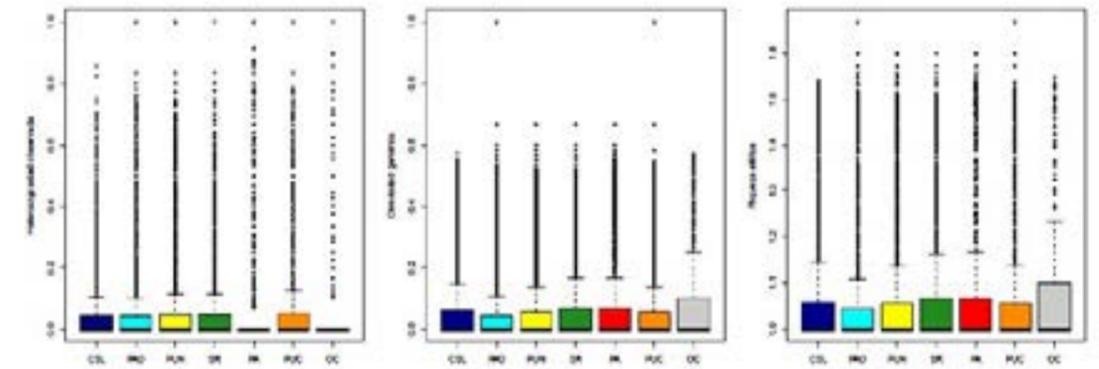


Figura 3. Estimados de diversidad genética de individuos adultos de mahi-mahi, *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Oriental. De izquierda a derecha: heterocigosidad observada (H_o), la diversidad genética (H_s), y riqueza alélica (A_r). CSL, Cabo San Lucas (norte de México); PAO, Puerto Ángel (sur de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

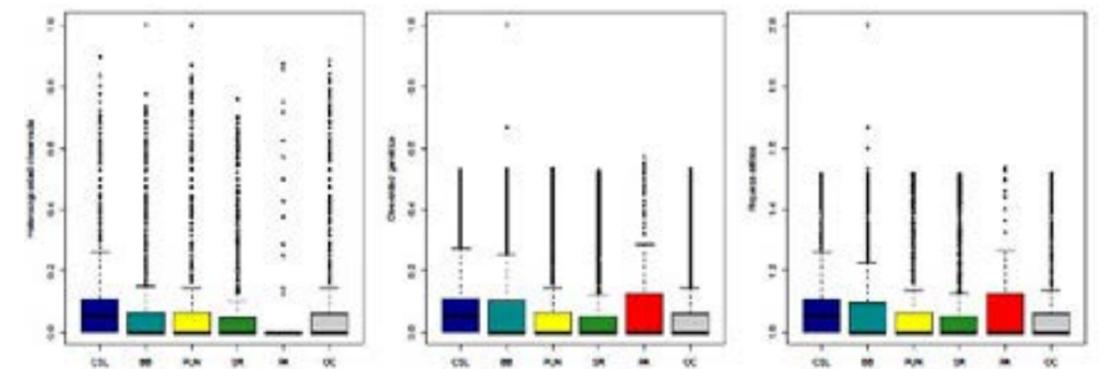


Figura 4. Estimados de diversidad genética de individuos juveniles de mahi-mahi, *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Oriental. De izquierda a derecha: heterocigosidad observada (H_o), la diversidad genética (H_s), y riqueza alélica (A_r). CSL, Cabo San Lucas (norte de México); BB, Bahía Banderas (centro 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.

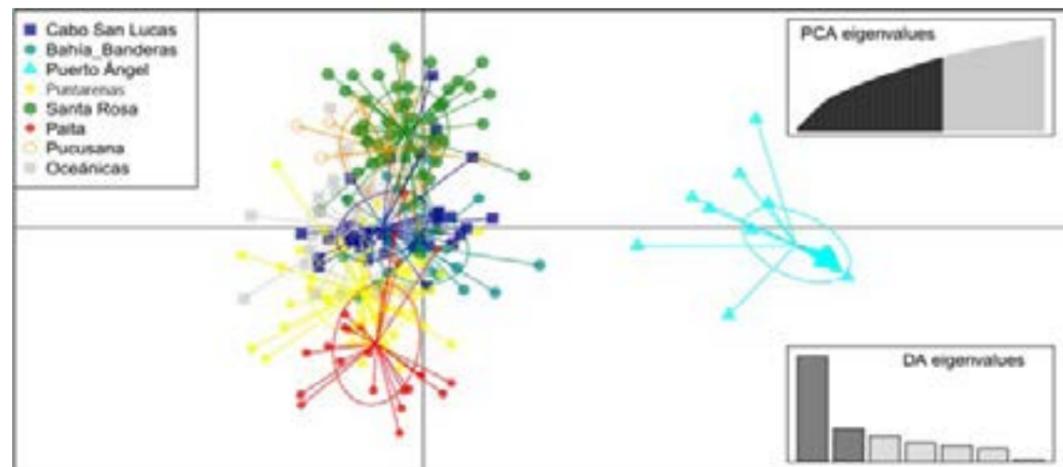


Figura 5. Patrón de estructuración del total de individuos de mahi-mahi (270) empleando DAPC.

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 Paita y Santa Rosa.

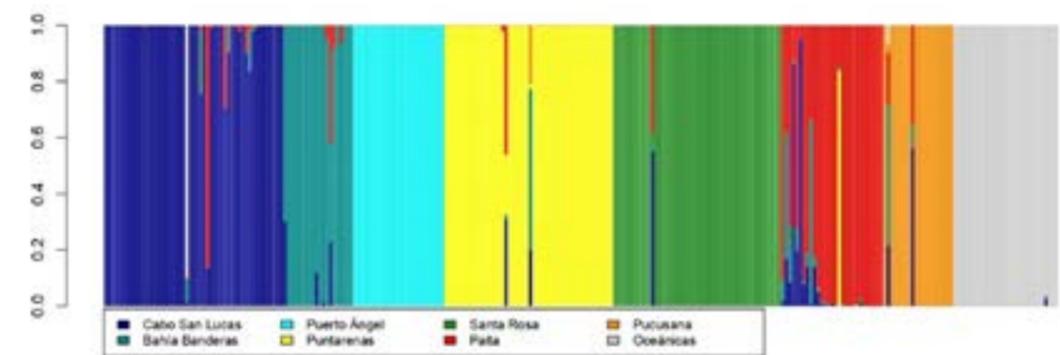


Figura 6. Patrón de estructuración del total de individuos de mahi-mahi (270) empleando un gráfico de la probabilidad de pertenecer a n grupos. Cada individuo se representa en una barra vertical, cada color de la barra representa la probabilidad (proporcional al largo de cada color) de pertenecer a n 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).

a cada localidad, cada individuo se encuentra asignado a su respectiva localidad con indicios de flujo genético entre Cabo San Lucas y Puerto Ángel, 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).

En el 'bar plot' (Fig. 8) donde se asigna la probabilidad de pertenencia de cada individuo

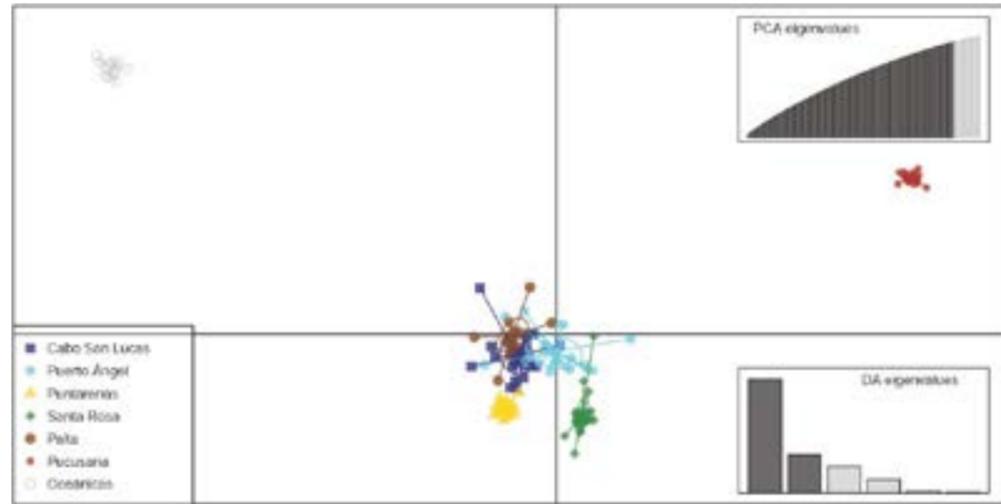


Figura 7. Patrón de estructuración de individuos adultos de mahi-mahi empleando DAPC.

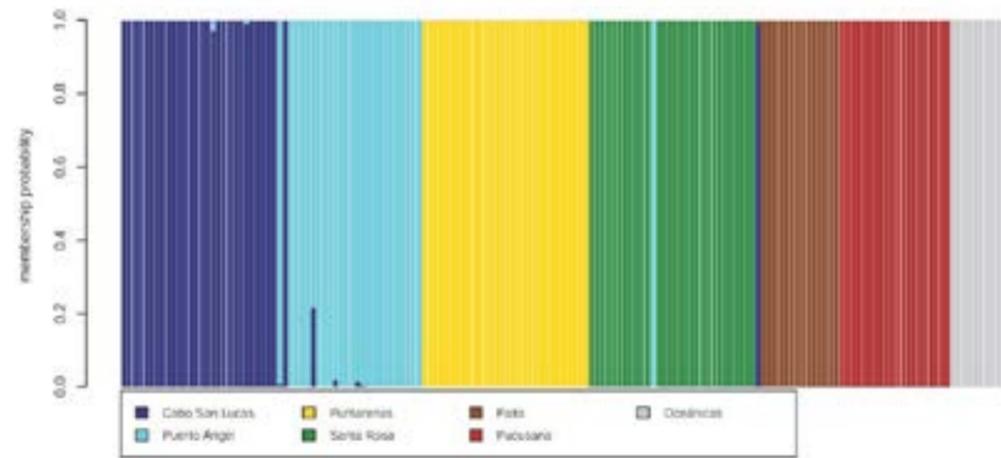


Figura 8. Patrón de estructuración de individuos adultos de mahi-mahi donde se observa la probabilidad de pertenecer a n grupos. Cada individuo se representa en una barra vertical, cada color de la barra representa la probabilidad (proporcional al largo de cada color) de pertenecer a n número de grupos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

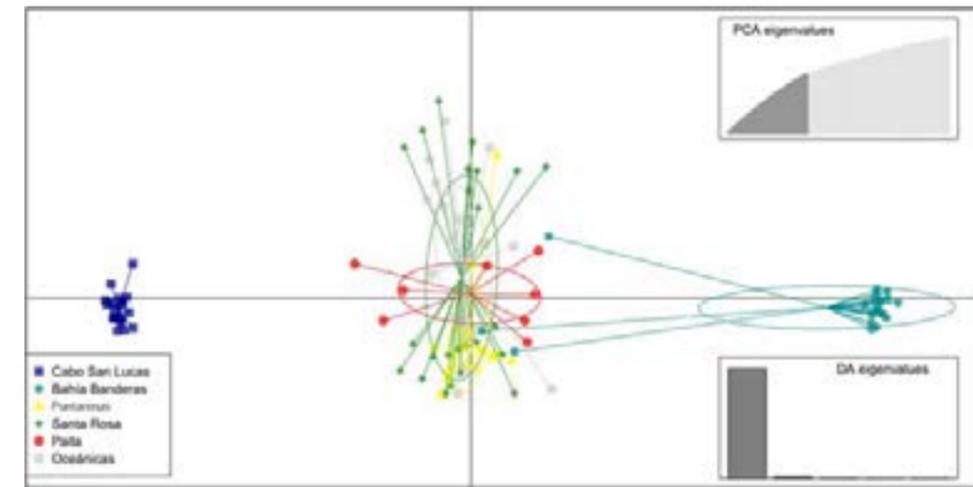


Figura 9. Patrón de estructuración de individuos juveniles de mahi-mahi empleando DAPC.

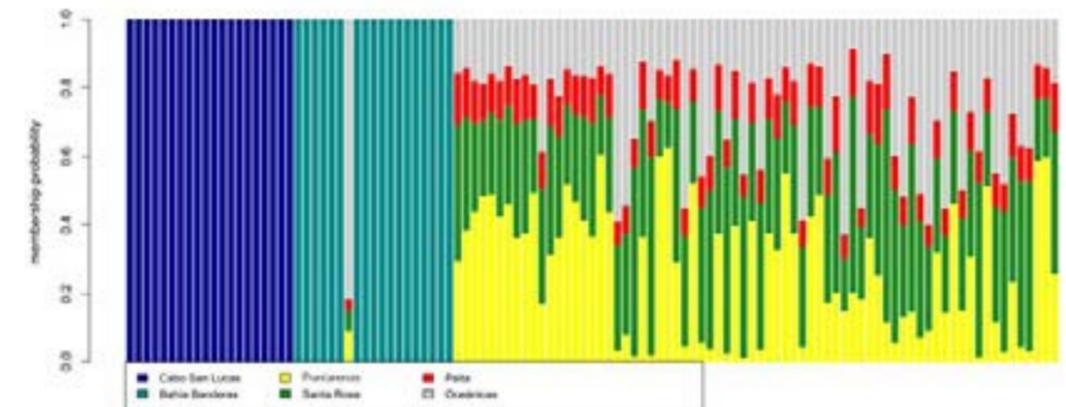


Figura 10. Gráfico de la probabilidad de pertenecer a n grupos (panel inferior). Cada individuo se representa en una barra vertical, cada color de la barra representa la probabilidad (proporcional al largo de cada color) de pertenecer a n número de grupos genéticos. Los DAPC separando a los individuos 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 270 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 Oceánicas; 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 significativo ($F_{CT} = 0.00108$; $P=0.04$; 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	0.10829	$F_{CT} = 0.00108^*$	0.04363
Entre poblaciones dentro de grupos	0.2993	$F_{SC} = 0.00300^*$	0.002
Dentro de poblaciones	99.59241	$F_{ST} = 0.00408^*$	0

* $p < 0.05$. Grupo 1: Cabo San Lucas; Grupo 2: Oceánicas; 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.

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).

Finalmente, en juveniles se consideraron 5 grupos; Grupo 1 Oceánicas; Grupo 2 Cabo

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 270 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 Andracka de EcoPacífico. Ecuador: al Instituto Público de Investigación de Acuicultura y Pesca de Ecuador, en especial al Director Mgs. Juan Javier García Bodniza, Subdirectora Mgs. María del Pilar Solís Coello, Carmen Cabanilla y a Eduardo Macías de la Cooperativa Santa Rosa. 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 BIBLIOGRÁFICAS

- **Aires-da-Silva, A., Lennert-Cody, C.E., Maunder, M.N., Román-Verdesoto, M., Minte-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 dolphinfishes, *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.

ANEXO I

**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**





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 IPIAP 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 incertidumbre 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 océano pacífico 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 stock(s) de esta especie en el océano Pacífico Oriental.

3. INSTITUCIONES PARTICIPANTES

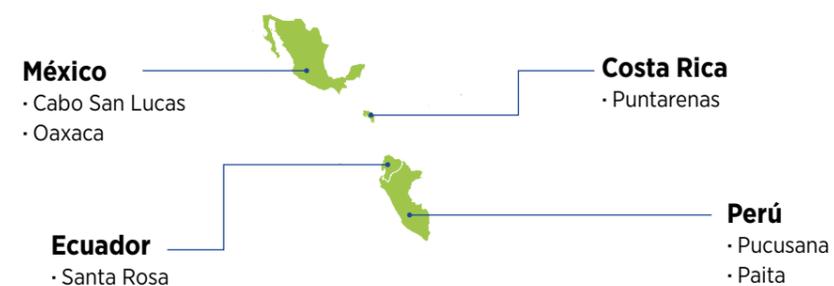
- Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura
- Instituto Público de Investigación de Acuicultura y Pesca de Ecuador.
- Instituto del Mar del Perú

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



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)

IPIAP

- ✓ **Responsable:** Blgo. Esteban Elías
- ✓ **Técnicos de campo:** Blgo. Esteban Elías y Carmen Cabanilla.

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.
- ✓ Colocar una etiqueta (señal) con un código. Ejemplo de código de muestra: ChSR 0518-11; donde las letras y números se refieren a:
 - Dos letras relacionadas a las iniciales del nombre científico de la especie colectada (ejm. Ch = *C. hippurus*).
 - Una letra en mayúscula que indica el lugar de colecta (ejm. SR=Santa Rosa).
 - Fecha del muestreo: compuesta por el mes y año (ejm. 0518 = mayo del 2018).
 - 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 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.
- ✓ 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

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

Cabo San Lucas (CSL)				
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

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

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

Oceanicas (OC)				
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

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

Bahia 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



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

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

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

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

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

Puntarenas (PUN)				
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

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

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

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

Ecuador (ECU)				
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

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

Paíta (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

Paíta (PA)				
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

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

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.

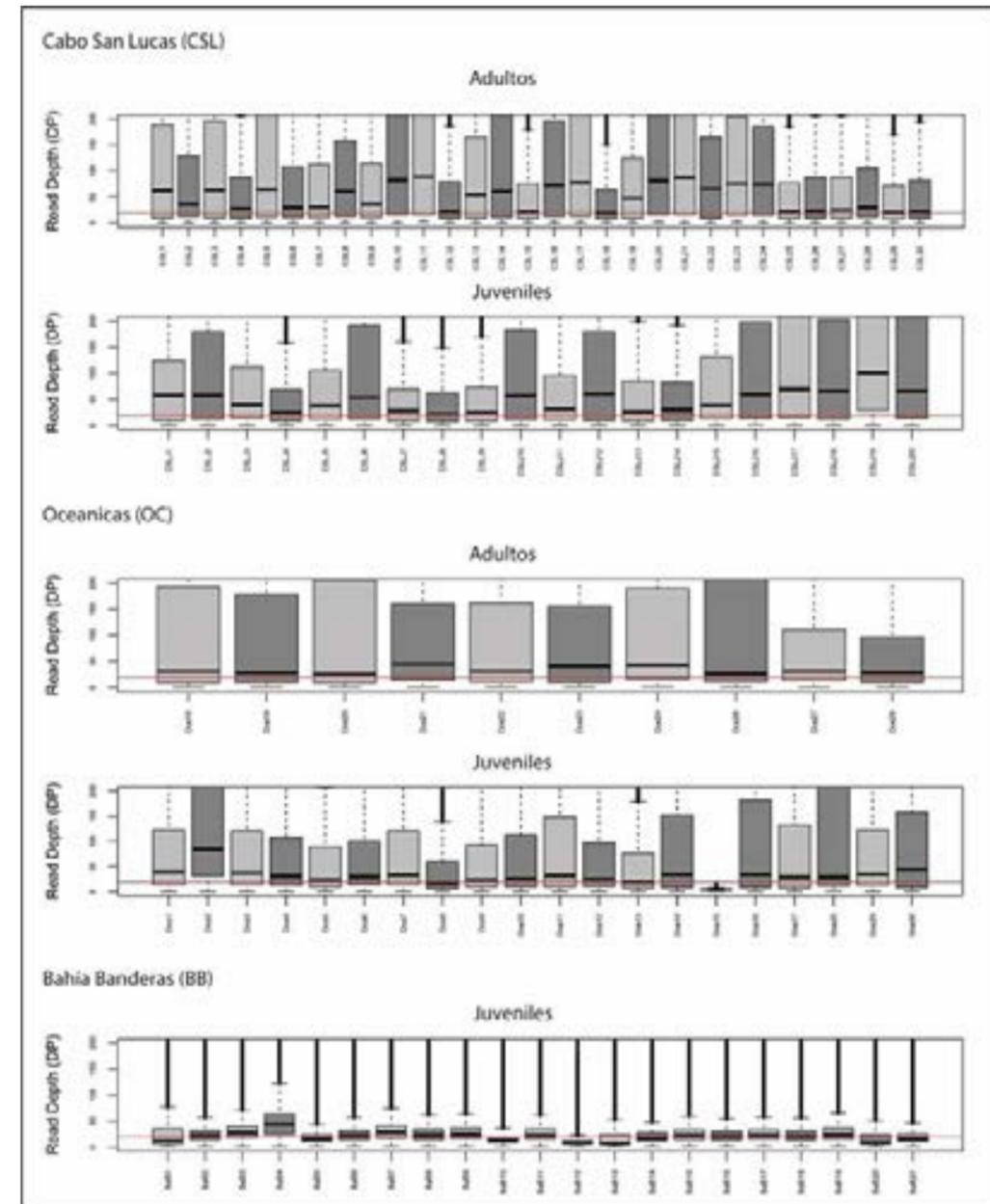




Figura 1. Cobertura de cada individuo secuenciado, la línea roja indica el valor óptimo de 20X.

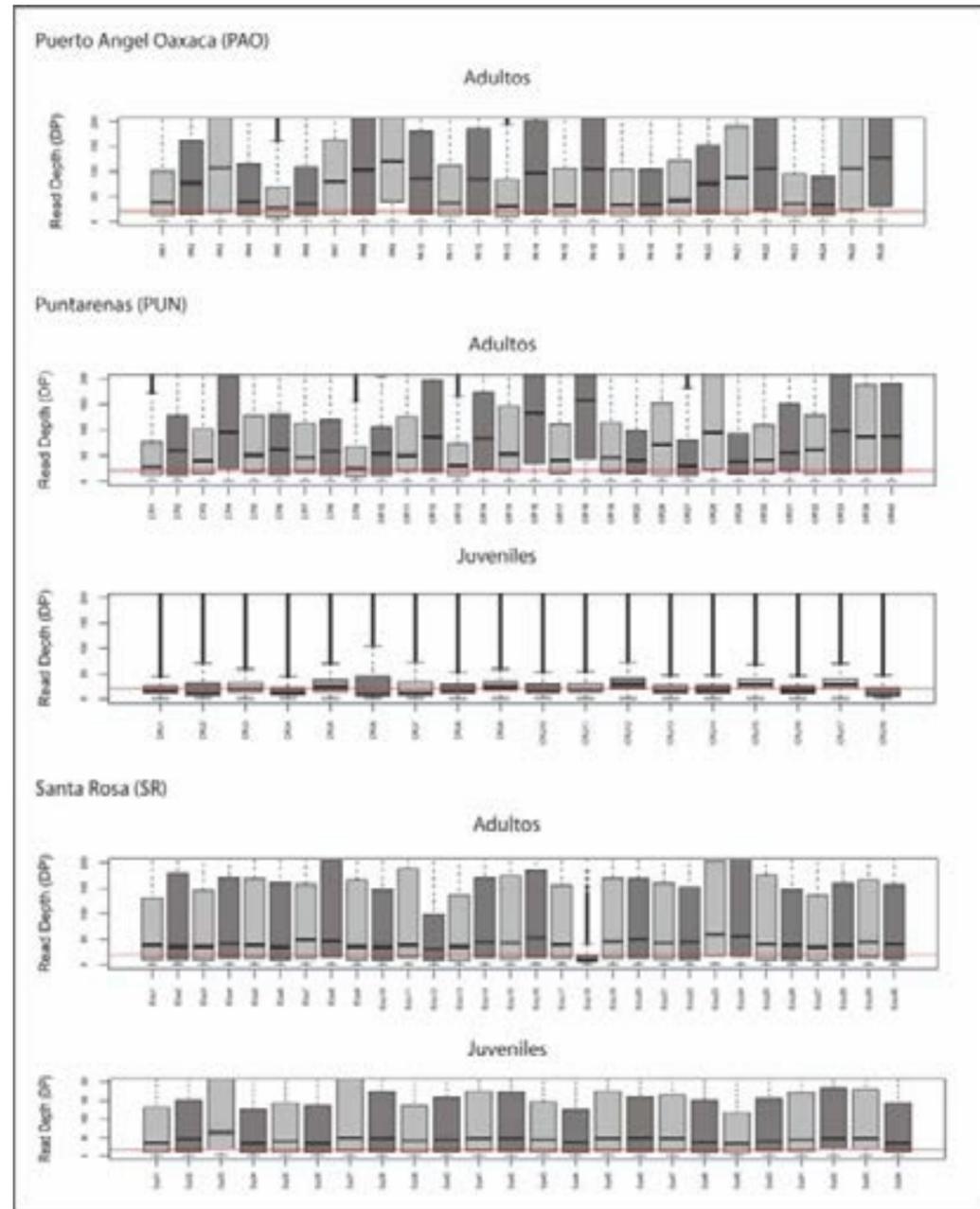
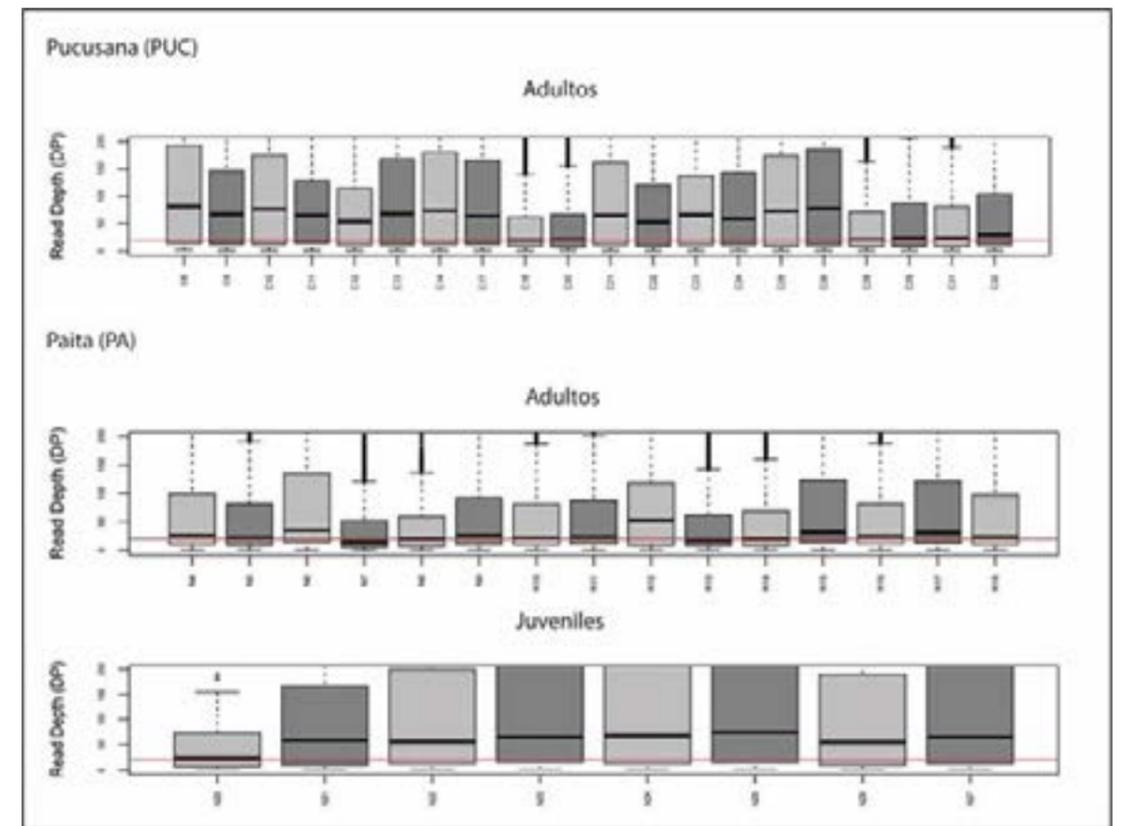


Figura 1. Cobertura de cada individuo secuenciado, la línea roja indica el valor óptimo de 20X.



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 polimórficas								
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* (270 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 FST y DAPC.

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

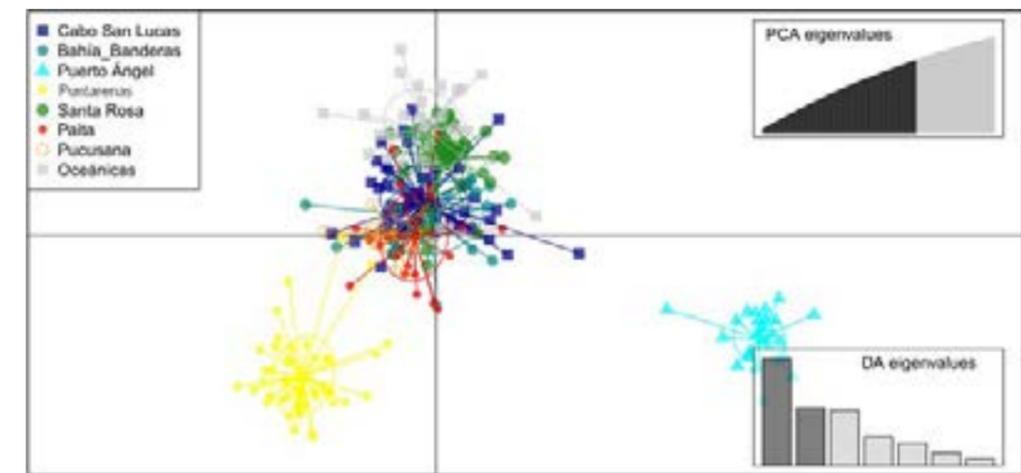


Figura 1A. Análisis de DAPC incluyendo los 270 individuos secuenciados de *Coryphaena hippurus* aplicando un filtro de 50% de missing data y descartando los alelos con frecuencias alélicas menores a 0.05%.

Tabla 1A. Análisis de varianza molecular (AMOVA) incluyendo los 270 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	$F_{CT} = 0.00027$	0.01851
Entre poblaciones dentro de grupos	0.26462	$F_{SC} = 0.00265$	0.00000
Dentro de poblaciones	99.70862	$F_{ST} = 0.00291$	0.00000

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

Tabla 2A. Valores pareados de FST entre localidades de 270 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

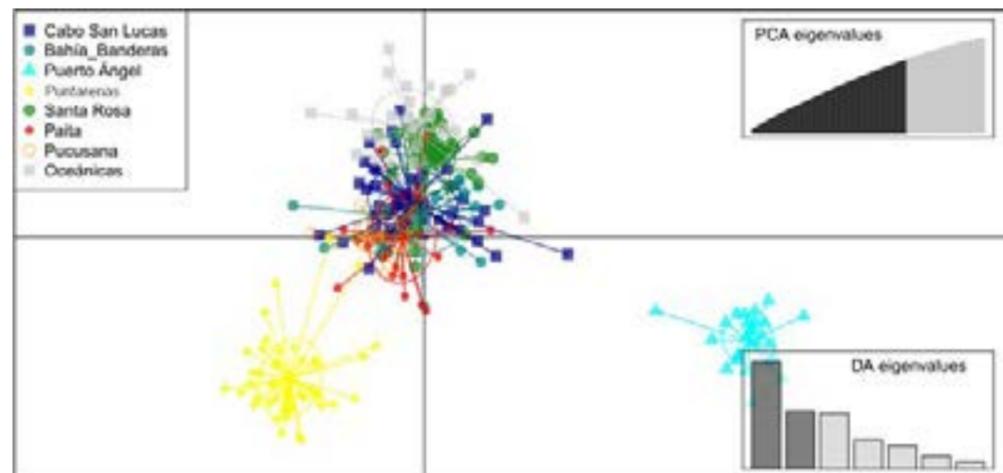


Figura 2A. Análisis de DAPC incluyendo individuos macho de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

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	FCT = 0.00035	0.40
Entre poblaciones dentro de grupos	0.29617	FSC = 0.00296	0.51
Dentro de poblaciones	99.66849	FST = 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: Paíta y Pucusana.

Tabla 4A. Valores pareados de FST 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 $p < 0.05$

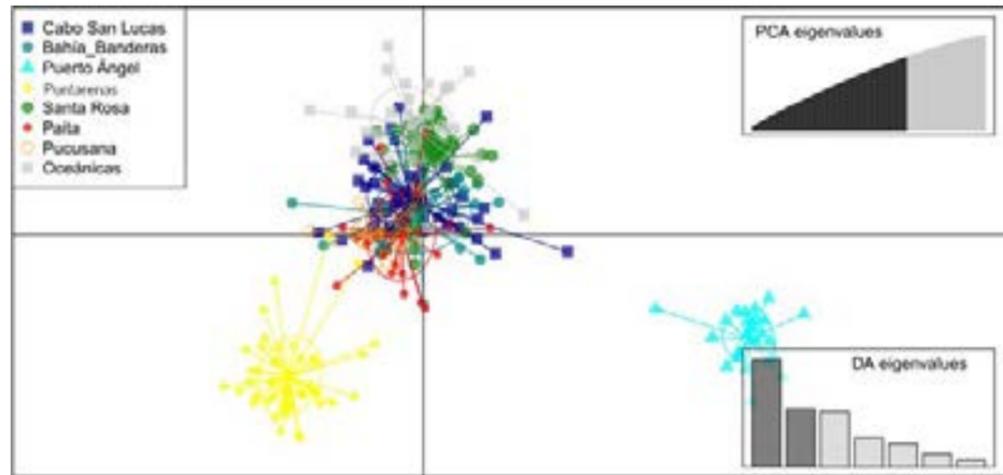


Figura 3A. Análisis de DAPC incluyendo a individuos hembras de *Coryphaena hippurus* filtrando un SNP por locus al azar.

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	$F_{CT} = 0.0012$	0.02
Entre poblaciones dentro de grupos	0.28959	$F_{SC} = 0.00290$	0.03
Dentro de poblaciones	99.59011	$F_{ST} = 0.00410$	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

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

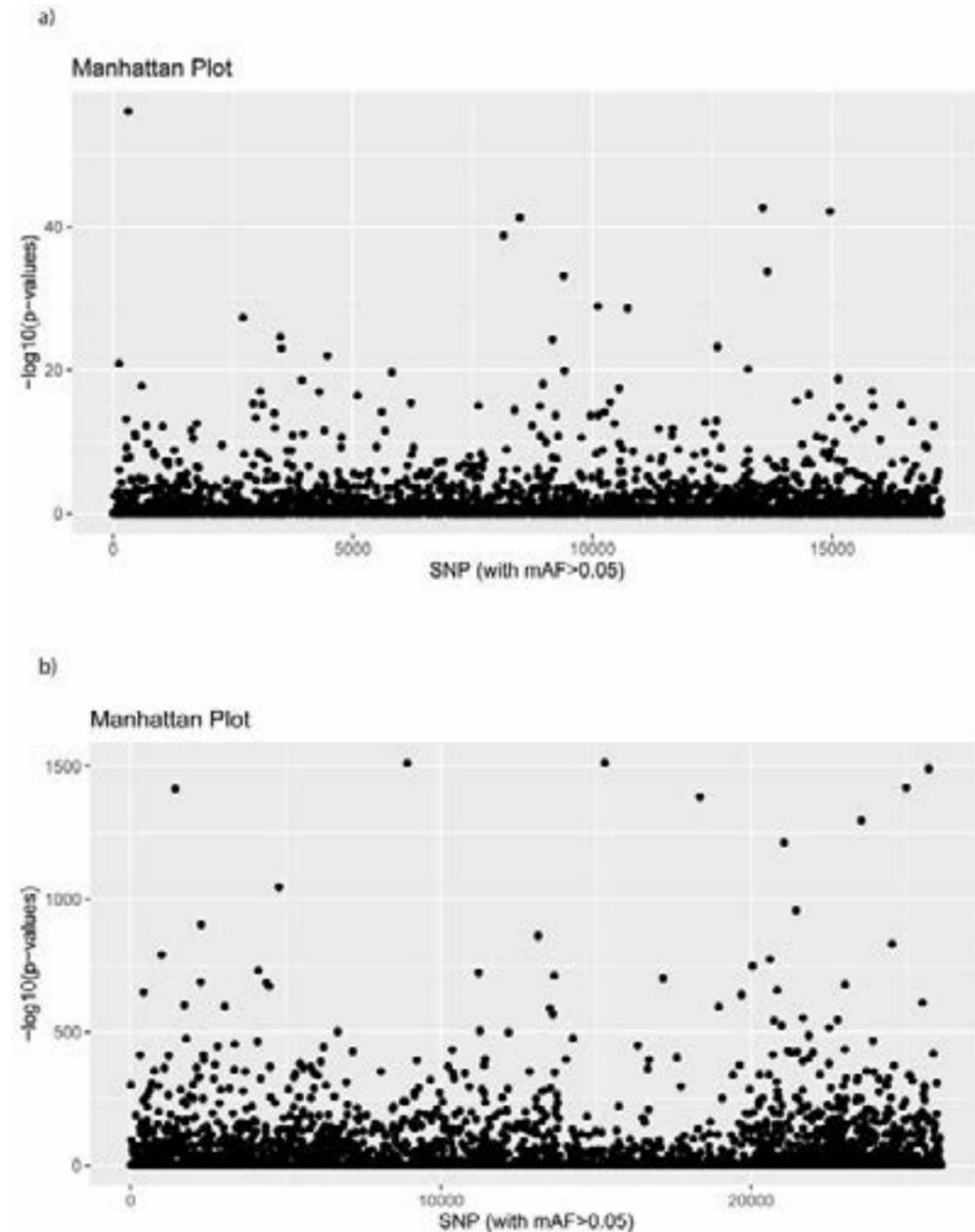


Tabla 1A. Número y posición de los SNP considerados como outliers de los individuos adultos

No. Outliers	Posición														
1	126	35	1744	69	3887	103	6762	137	9030	171	10929	205	13650	239	15119
2	128	36	1748	70	3940	104	6804	138	9084	172	11156	206	13661	240	15126
3	273	37	1786	71	3971	105	6880	139	9116	173	11206	207	13782	241	15131
4	274	38	2270	72	4083	106	6887	140	9165	174	11384	208	13819	242	15170
5	282	39	2364	73	4300	107	7209	141	9167	175	11438	209	13848	243	15174
6	317	40	2711	74	4372	108	7319	142	9187	176	11465	210	13889	244	15244
7	353	41	2734	75	4410	109	7388	143	9232	177	11466	211	13922	245	15317
8	373	42	2810	76	4412	110	7441	144	9260	178	11573	212	14009	246	15332
9	409	43	2840	77	4470	111	7474	145	9286	179	11662	213	14012	247	15423
10	455	44	2924	78	4696	112	7523	146	9399	180	11675	214	14023	248	15480
11	469	45	2926	79	4739	113	7548	147	9417	181	11793	215	14046	249	15520
12	544	46	2976	80	4757	114	7623	148	9737	182	11915	216	14215	250	15640
13	590	47	2985	81	4769	115	7636	149	9772	183	12074	217	14255	251	15657
14	597	48	3033	82	5022	116	7649	150	9794	184	12128	218	14256	252	15755
15	665	49	3071	83	5099	117	7679	151	9960	185	12345	219	14260	253	15837
16	694	50	3105	84	5156	118	7688	152	9983	186	12354	220	14377	254	15859
17	725	51	3116	85	5336	119	7704	153	10077	187	12425	221	14432	255	16005
18	844	52	3188	86	5357	120	7737	154	10113	188	12426	222	14480	256	16019
19	874	53	3221	87	5495	121	8129	155	10120	189	12530	223	14518	257	16068
20	960	54	3229	88	5606	122	8137	156	10140	190	12586	224	14567	258	16253
21	1033	55	3342	89	5674	123	8146	157	10155	191	12607	225	14649	259	16442
22	1093	56	3364	90	5680	124	8206	158	10212	192	12620	226	14680	260	16512
23	1151	57	3376	91	5816	125	8378	159	10252	193	12680	227	14684	261	16575
24	1152	58	3386	92	6112	126	8423	160	10368	194	12719	228	14819	262	16650
25	1277	59	3412	93	6145	127	8487	161	10461	195	13125	229	14828	263	16674
26	1378	60	3490	94	6213	128	8650	162	10557	196	13184	230	14857	264	16741
27	1397	61	3512	95	6227	129	8742	163	10561	197	13187	231	14930	265	16883
28	1439	62	3636	96	6268	130	8863	164	10565	198	13189	232	14940	266	16938
29	1478	63	3645	97	6337	131	8867	165	10577	199	13248	233	14945	267	16983
30	1505	64	3672	98	6434	132	8907	166	10632	200	13253	234	14959	268	17121
31	1535	65	3721	99	6468	133	8914	167	10639	201	13256	235	14974	269	17159
32	1632	66	3745	100	6532	134	8915	168	10734	202	13267	236	14992	270	17195
33	1671	67	3749	101	6612	135	8967	169	10847	203	13283	237	15055	271	17216
34	1740	68	3857	102	6734	136	9027	170	10900	204	13555	238	15115		



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

No. Outliers	Posición														
1	11	213	2862	425	6074	637	9749	849	13518	1061	19521	1273	21905	1485	23928
2	30	214	2876	426	6086	638	9758	850	13533	1062	19613	1274	21911	1486	23933
3	68	215	2894	427	6094	639	9761	851	13537	1063	19625	1275	21919	1487	23952
4	70	216	2902	428	6109	640	9766	852	13554	1064	19632	1276	21920	1488	23954
5	93	217	2906	429	6112	641	9781	853	13570	1065	19671	1277	21922	1489	23962
6	103	218	2924	430	6116	642	9800	854	13581	1066	19685	1278	21924	1490	23966
7	125	219	2926	431	6122	643	9853	855	13607	1067	19688	1279	21937	1491	23974
8	134	220	2932	432	6130	644	9867	856	13609	1068	19725	1280	21947	1492	23986
9	169	221	2946	433	6148	645	9879	857	13611	1069	19727	1281	21951	1493	23995
10	170	222	2986	434	6155	646	9891	858	13623	1070	19753	1282	21962	1494	24004
11	173	223	2998	435	6159	647	9933	859	13627	1071	19759	1283	21972	1495	24009
12	193	224	3000	436	6171	648	9948	860	13638	1072	19762	1284	21980	1496	24014
13	196	225	3029	437	6175	649	9958	861	13648	1073	19773	1285	21989	1497	24017
14	206	226	3035	438	6186	650	9963	862	13650	1074	19779	1286	21992	1498	24068
15	219	227	3072	439	6221	651	9993	863	13655	1075	19789	1287	22005	1499	24080
16	224	228	3086	440	6222	652	10032	864	13667	1076	19802	1288	22009	1500	24084
17	272	229	3116	441	6233	653	10053	865	13696	1077	19804	1289	22032	1501	24102
18	276	230	3173	442	6238	654	10054	866	13704	1078	19825	1290	22033	1502	24106
19	307	231	3186	443	6254	655	10061	867	13722	1079	19893	1291	22041	1503	24118
20	313	232	3195	444	6255	656	10069	868	13728	1080	19943	1292	22065	1504	24119
21	323	233	3234	445	6258	657	10087	869	13739	1081	19951	1293	22074	1505	24122
22	326	234	3239	446	6264	658	10088	870	13744	1082	19954	1294	22091	1506	24125
23	335	235	3246	447	6272	659	10092	871	13764	1083	19992	1295	22108	1507	24161
24	357	236	3257	448	6273	660	10104	872	13807	1084	19999	1296	22125	1508	24195
25	380	237	3284	449	6274	661	10115	873	13838	1085	20005	1297	22137	1509	24197
26	386	238	3293	450	6295	662	10131	874	13919	1086	20031	1298	22138	1510	24256
27	409	239	3296	451	6303	663	10175	875	13987	1087	20042	1299	22154	1511	24258
28	420	240	3299	452	6338	664	10194	876	14036	1088	20046	1300	22194	1512	24269
29	435	241	3303	453	6344	665	10234	877	14070	1089	20058	1301	22207	1513	24280
30	437	242	3307	454	6345	666	10260	878	14143	1090	20074	1302	22214	1514	24299
31	438	243	3325	455	6366	667	10285	879	14186	1091	20075	1303	22227	1515	24302
32	439	244	3328	456	6377	668	10306	880	14193	1092	20101	1304	22236	1516	24317
33	458	245	3342	457	6405	669	10308	881	14240	1093	20118	1305	22240	1517	24321
34	476	246	3343	458	6407	670	10319	882	14256	1094	20148	1306	22263	1518	24323
35	477	247	3355	459	6418	671	10325	883	14259	1095	20152	1307	22270	1519	24325
36	483	248	3373	460	6433	672	10336	884	14264	1096	20154	1308	22279	1520	24351
37	488	249	3405	461	6437	673	10368	885	14265	1097	20179	1309	22281	1521	24360
38	489	250	3431	462	6439	674	10383	886	14297	1098	20205	1310	22313	1522	24375
39	528	251	3447	463	6446	675	10388	887	14341	1099	20210	1311	22328	1523	24380
40	533	252	3453	464	6463	676	10396	888	14361	1100	20222	1312	22332	1524	24386



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

No. Outliers	Posición														
41	534	253	3462	465	6465	677	10402	889	14392	1101	20237	1313	22335	1525	24422
42	539	254	3465	466	6467	678	10409	890	14393	1102	20239	1314	22337	1526	24425
43	542	255	3480	467	6472	679	10428	891	14411	1103	20242	1315	22338	1527	24433
44	545	256	3490	468	6473	680	10464	892	14454	1104	20249	1316	22342	1528	24440
45	547	257	3523	469	6491	681	10569	893	14500	1105	20251	1317	22360	1529	24441
46	553	258	3535	470	6493	682	10607	894	14505	1106	20269	1318	22368	1530	24446
47	554	259	3541	471	6501	683	10612	895	14508	1107	20272	1319	22377	1531	24467
48	561	260	3572	472	6533	684	10633	896	14529	1108	20282	1320	22392	1532	24478
49	570	261	3577	473	6552	685	10640	897	14547	1109	20284	1321	22432	1533	24480
50	582	262	3603	474	6559	686	10646	898	14661	1110	20288	1322	22438	1534	24494
51	585	263	3622	475	6567	687	10687	899	14708	1111	20292	1323	22444	1535	24502
52	606	264	3626	476	6569	688	10731	900	14709	1112	20302	1324	22446	1536	24510
53	615	265	3627	477	6591	689	10758	901	14735	1113	20311	1325	22448	1537	24521
54	617	266	3628	478	6592	690	10772	902	14764	1114	20318	1326	22454	1538	24523
55	618	267	3636	479	6627	691	10781	903	14770	1115	20352	1327	22459	1539	24541
56	622	268	3648	480	6646	692	10798	904	14846	1116	20354	1328	22462	1540	24571
57	632	269	3661	481	6667	693	10853	905	14871	1117	20358	1329	22463	1541	24578
58	658	270	3665	482	6675	694	10894	906	14883	1118	20367	1330	22467	1542	24592
59	664	271	3689	483	6678	695	10903	907	14964	1119	20372	1331	22470	1543	24599
60	681	272	3695	484	6702	696	10909	908	14979	1120	20410	1332	22476	1544	24609
61	722	273	3707	485	6704	697	10913	909	14988	1121	20423	1333	22486	1545	24612
62	736	274	3731	486	6711	698	10919	910	15032	1122	20430	1334	22492	1546	24616
63	748	275	3760	487	6728	699	10958	911	15063	1123	20453	1335	22495	1547	24641
64	749	276	3766	488	6811	700	10988	912	15095	1124	20464	1336	22510	1548	24642
65	756	277	3769	489	6815	701	10994	913	15142	1125	20471	1337	22514	1549	24646
66	764	278	3788	490	6830	702	10997	914	15183	1126	20480	1338	22515	1550	24654
67	766	279	3798	491	6862	703	11001	915	15213	1127	20482	1339	22544	1551	24656
68	768	280	3809	492	6867	704	11059	916	15245	1128	20485	1340	22546	1552	24662
69	769	281	3824	493	6954	705	11062	917	15284	1129	20492	1341	22556	1553	24675
70	778	282	3827	494	6957	706	11097	918	15377	1130	20493	1342	22557	1554	24698
71	779	283	3838	495	6973	707	11118	919	15476	1131	20500	1343	22562	1555	24700
72	823	284	3854	496	6986	708	11132	920	15493	1132	20501	1344	22568	1556	24712
73	845	285	3862	497	6991	709	11140	921	15533	1133	20505	1345	22571	1557	24718
74	875	286	3885	498	6992	710	11174	922	15552	1134	20518	1346	22586	1558	24726
75	899	287	3891	499	7009	711	11217	923	15559	1135	20520	1347	22593	1559	24735
76	904	288	3895	500	7038	712	11220	924	15590	1136	20526	1348	22603	1560	24742
77	906	289	3908	501	7058	713	11257	925	15664	1137	20539	1349	22617	1561	24761
78	911	290	3914	502	7065	714	11262	926	15679	1138	20562	1350	22621	1562	24792
79	922	291	3918	503	7079	715	11275	927	15694	1139	20575	1351	22626	1563	24803
80	956	292	3929	504	7096	716									



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

No. Outliers	Posición														
81	958	293	3937	505	7118	717	11323	929	15728	1141	20583	1353	22647	1565	24836
82	979	294	3940	506	7124	718	11327	930	15733	1142	20589	1354	22667	1566	24845
83	985	295	3965	507	7127	719	11356	931	15791	1143	20604	1355	22676	1567	24855
84	992	296	3971	508	7161	720	11363	932	15805	1144	20608	1356	22680	1568	24856
85	1000	297	4040	509	7202	721	11369	933	15824	1145	20610	1357	22685	1569	24870
86	1022	298	4053	510	7225	722	11395	934	15827	1146	20613	1358	22693	1570	24874
87	1077	299	4065	511	7250	723	11398	935	15865	1147	20614	1359	22699	1571	24877
88	1082	300	4093	512	7261	724	11401	936	15902	1148	20615	1360	22708	1572	24878
89	1088	301	4115	513	7263	725	11407	937	16022	1149	20626	1361	22715	1573	24879
90	1108	302	4121	514	7266	726	11419	938	16038	1150	20634	1362	22748	1574	24885
91	1112	303	4175	515	7294	727	11422	939	16042	1151	20653	1363	22764	1575	24903
92	1125	304	4182	516	7304	728	11427	940	16058	1152	20665	1364	22767	1576	24915
93	1129	305	4185	517	7325	729	11436	941	16096	1153	20682	1365	22783	1577	24929
94	1130	306	4186	518	7342	730	11446	942	16100	1154	20683	1366	22786	1578	24964
95	1136	307	4193	519	7353	731	11473	943	16108	1155	20692	1367	22789	1579	24967
96	1142	308	4203	520	7390	732	11476	944	16138	1156	20694	1368	22799	1580	24981
97	1148	309	4249	521	7412	733	11530	945	16231	1157	20698	1369	22800	1581	24984
98	1160	310	4264	522	7434	734	11534	946	16245	1158	20701	1370	22806	1582	24993
99	1204	311	4275	523	7472	735	11541	947	16251	1159	20702	1371	22810	1583	24995
100	1219	312	4304	524	7492	736	11549	948	16272	1160	20712	1372	22814	1584	24997
101	1229	313	4339	525	7495	737	11561	949	16312	1161	20714	1373	22819	1585	25012
102	1261	314	4353	526	7511	738	11563	950	16347	1162	20738	1374	22821	1586	25025
103	1275	315	4357	527	7537	739	11569	951	16393	1163	20741	1375	22829	1587	25032
104	1289	316	4379	528	7557	740	11581	952	16444	1164	20754	1376	22831	1588	25065
105	1291	317	4420	529	7602	741	11595	953	16500	1165	20759	1377	22836	1589	25073
106	1294	318	4425	530	7628	742	11632	954	16508	1166	20774	1378	22837	1590	25080
107	1298	319	4459	531	7661	743	11642	955	16532	1167	20783	1379	22844	1591	25100
108	1343	320	4472	532	7671	744	11659	956	16541	1168	20789	1380	22857	1592	25101
109	1345	321	4474	533	7673	745	11665	957	16549	1169	20795	1381	22864	1593	25106
110	1354	322	4491	534	7709	746	11718	958	16551	1170	20813	1382	22875	1594	25112
111	1361	323	4494	535	7731	747	11729	959	16569	1171	20819	1383	22876	1595	25118
112	1367	324	4508	536	7775	748	11730	960	16572	1172	20830	1384	22880	1596	25126
113	1380	325	4514	537	7790	749	11742	961	16585	1173	20839	1385	22892	1597	25131
114	1382	326	4518	538	7839	750	11757	962	16608	1174	20842	1386	22895	1598	25166
115	1396	327	4571	539	7847	751	11784	963	16627	1175	20844	1387	22914	1599	25202
116	1418	328	4578	540	7885	752	11788	964	16667	1176	20851	1388	22920	1600	25224
117	1442	329	4635	541	7941	753	11805	965	16668	1177	20867	1389	22923	1601	25226
118	1466	330	4644	542	7965	754	11811	966	16692	1178	20868	1390	22930	1602	25229
119	1524	331	4645	543	7976	755	11821	967	16705	1179	20869	1391	22938	1603	25253
120	1529	332	4657	544	7997	756	11827	968	16712	1180	20870	1392	22940	1604	25254



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

No. Outliers	Posición														
121	1530	333	4697	545	8048	757	11850	969	16735	1181	20877	1393	22943	1605	25258
122	1550	334	4710	546	8070	758	11854	970	16776	1182	20881	1394	22953	1606	25270
123	1570	335	4711	547	8074	759	11861	971	16777	1183	20894	1395	22965	1607	25284
124	1576	336	4730	548	8158	760	11878	972	16818	1184	20903	1396	22969	1608	25294
125	1581	337	4735	549	8165	761	11885	973	16849	1185	20907	1397	22979	1609	25337
126	1596	338	4756	550	8192	762	11901	974	16921	1186	20926	1398	22988	1610	25338
127	1614	339	4780	551	8197	763	11962	975	16936	1187	20927	1399	22990	1611	25344
128	1627	340	4782	552	8202	764	11973	976	16949	1188	20934	1400	22991	1612	25366
129	1631	341	4795	553	8215	765	11977	977	17030	1189	20947	1401	22994	1613	25373
130	1633	342	4801	554	8223	766	11980	978	17037	1190	20958	1402	23001	1614	25374
131	1644	343	4823	555	8235	767	12001	979	17053	1191	20980	1403	23004	1615	25393
132	1651	344	4849	556	8246	768	12030	980	17066	1192	20981	1404	23009	1616	25402
133	1673	345	4854	557	8268	769	12090	981	17094	1193	20991	1405	23019	1617	25413
134	1679	346	4884	558	8287	770	12110	982	17161	1194	20994	1406	23024	1618	25418
135	1686	347	4889	559	8290	771	12113	983	17186	1195	21005	1407	23055	1619	25431
136	1694	348	4913	560	8365	772	12125	984	17259	1196	21058	1408	23058	1620	25439
137	1696	349	4926	561	8412	773	12126	985	17332	1197	21061	1409	23059	1621	25447
138	1701	350	4929	562	8415	774	12127	986	17335	1198	21070	1410	23086	1622	25457
139	1706	351	5033	563	8426	775	12157	987	17369	1199	21085	1411	23087	1623	25463
140	1734	352	5057	564	8440	776	12181	988	17411	1200	21122	1412	23096	1624	25470
141	1740	353	5069	565	8441	777	12183	989	17442	1201	21165	1413	23101	1625	25508
142	1747	354	5075	566	8450	778	12209	990	17472	1202	21170	1414	23106	1626	25514
143	1764	355	5091	567	8451	779	12300	991	17477	1203	21183	1415	23110	1627	25517
144	1775	356	5092	568	8459	780	12343	992	17524	1204	21202	1416	23111	1628	25520
145	1787	357	5108	569	8474	781	12351	993	17605	1205	21235	1417	23116	1629	25548
146	1789	358	5137	570	8494	782	12386	994	17655	1206	21238	1418	23131	1630	25556
147	1796	359	5149	571	8496	783	12392	995	17673	1207	21244	1419	23134	1631	25573
148	1816	360	5177	572	8533	784	12489	996	17677	1208	21248	1420	23148	1632	25576
149	1847	361	5180	573	8538	785	12510	997	17701	1209	21262	1421	23176	1633	25580
150	1866	362	5198	574	8545	786	12523	998	17703	1210	21268	1422	23206	1634	25594
151	1883	363	5222	575	8547	787	12543	999	17728	1211	21279	1423	23236	1635	25595
152	1889	364	5244	576	8575	788	12580	1000	17735	1212	21286	1424	23268	1636	25599
153	1896	365	5260	577	8595	789	12614	1001	17784	1213	21288	1425	23281	1637	25604
154	1905	366	5265	578	8600	790	12619	1002	17792	1214	21301	1426	23283	1638	25623
155	1918	367	5283	579	8630	791	12667	1003	17806	1215	21307	1427	23285	1639	25670
156	1936	368	5290	580	8637	792	12675	1004	17848	1216	21344	1428	23286	1640	25675
157	1963	369	5304	581	8663	793	12682	1005	17862	1217	21386	1429	23289	1641	25688
158	1971	370	5312	582	8687	794	12683	1006	17874	1218	21400	1430	23301	1642	25689
159	1976	371	5315</												



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

No. Outliers	Posición														
161	2022	373	5360	585	8746	797	12728	1009	17950	1221	21442	1433	23320	1645	25744
162	2023	374	5366	586	8767	798	12745	1010	17978	1222	21447	1434	23324	1646	25804
163	2030	375	5373	587	8783	799	12752	1011	17983	1223	21449	1435	23328	1647	25807
164	2035	376	5386	588	8788	800	12764	1012	17990	1224	21450	1436	23376	1648	25817
165	2048	377	5395	589	8801	801	12776	1013	18004	1225	21463	1437	23377	1649	25821
166	2049	378	5413	590	8846	802	12823	1014	18020	1226	21486	1438	23406	1650	25823
167	2077	379	5423	591	8852	803	12832	1015	18100	1227	21489	1439	23409	1651	25827
168	2081	380	5429	592	8866	804	12833	1016	18113	1228	21492	1440	23411	1652	25832
169	2086	381	5434	593	8887	805	12837	1017	18136	1229	21494	1441	23417	1653	25846
170	2109	382	5436	594	8903	806	12845	1018	18220	1230	21495	1442	23422	1654	25870
171	2128	383	5442	595	8916	807	12854	1019	18289	1231	21505	1443	23423	1655	25878
172	2136	384	5463	596	9005	808	12858	1020	18319	1232	21510	1444	23437	1656	25886
173	2160	385	5479	597	9053	809	12863	1021	18322	1233	21535	1445	23444	1657	25896
174	2176	386	5481	598	9055	810	12864	1022	18349	1234	21538	1446	23466	1658	25912
175	2194	387	5527	599	9060	811	12906	1023	18368	1235	21547	1447	23501	1659	25933
176	2222	388	5530	600	9079	812	12964	1024	18439	1236	21548	1448	23512	1660	25949
177	2225	389	5533	601	9121	813	13013	1025	18450	1237	21556	1449	23513	1661	25953
178	2258	390	5543	602	9143	814	13035	1026	18541	1238	21588	1450	23541	1662	25980
179	2261	391	5550	603	9148	815	13047	1027	18611	1239	21591	1451	23543	1663	25982
180	2262	392	5558	604	9154	816	13066	1028	18635	1240	21596	1452	23547	1664	25990
181	2267	393	5559	605	9156	817	13071	1029	18653	1241	21605	1453	23551	1665	25992
182	2272	394	5570	606	9161	818	13080	1030	18654	1242	21620	1454	23599	1666	26005
183	2304	395	5580	607	9206	819	13090	1031	18681	1243	21635	1455	23606	1667	26015
184	2334	396	5630	608	9215	820	13097	1032	18685	1244	21636	1456	23619	1668	26017
185	2346	397	5642	609	9223	821	13101	1033	18697	1245	21655	1457	23623	1669	26021
186	2349	398	5680	610	9230	822	13119	1034	18700	1246	21660	1458	23631	1670	26032
187	2350	399	5706	611	9284	823	13120	1035	18821	1247	21667	1459	23633	1671	26034
188	2361	400	5710	612	9290	824	13133	1036	18843	1248	21669	1460	23638	1672	26036
189	2377	401	5713	613	9352	825	13154	1037	18920	1249	21673	1461	23645	1673	26056
190	2409	402	5738	614	9354	826	13194	1038	18922	1250	21690	1462	23650	1674	26058
191	2434	403	5761	615	9364	827	13236	1039	18943	1251	21696	1463	23655	1675	26080
192	2441	404	5763	616	9378	828	13250	1040	18957	1252	21703	1464	23659		
193	2451	405	5779	617	9385	829	13256	1041	19053	1253	21714	1465	23677		
194	2461	406	5797	618	9386	830	13282	1042	19066	1254	21719	1466	23682		
195	2482	407	5808	619	9389	831	13316	1043	19079	1255	21738	1467	23685		
196	2497	408	5815	620	9406	832	13317	1044	19122	1256	21743	1468	23698		
197	2510	409	5843	621	9502	833	13318	1045	19155	1257	21756	1469	23711		
198	2531	410	5854	622	9512	834	13325	1046	19187	1258	21761	1470	23715		
199	2554	411	5874	623	9544	835	13329	1047	19233	1259	21766	1471	23730		
200	2567	412	5899	624	9556	836	13354	1048	19241	1260	21778	1472	23740		
201	2570	413	5911	625	9583	837	13366	1049	19300	1261	21792	1473	23769		



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

No. Outliers	Posición														
202	2617	414	5920	626	9621	838	13382	1050	19307	1262	21793	1474	23792		
203	2645	415	5921	627	9623	839	13386	1051	19331	1263	21804	1475	23824		
204	2659	416	5926	628	9655	840	13391	1052	19352	1264	21818	1476	23828		
205	2681	417	5951	629	9662	841	13397	1053	19355	1265	21822	1477	23836		
206	2687	418	5976	630	9689	842	13402	1054	19365	1266	21824	1478	23862		
207	2722	419	5977	631	9693	843	13428	1055	19411	1267	21829	1479	23866		
208	2724	420	5993	632	9714	844	13447	1056	19418	1268	21831	1480	23869		
209	2764	421	6036	633	9717	845	13473	1057	19420	1269	21844	1481	23872		
210	2795	422	6038	634	9718	846	13489	1058	19448	1270	21857	1482	23898		
211	2808	423	6065	635	9724	847	13494	1059	19478	1271	21871	1483	23915		
212	2818	424	6070	636	9727	848	13508	1060	19487	1272	21892	1484	23926		

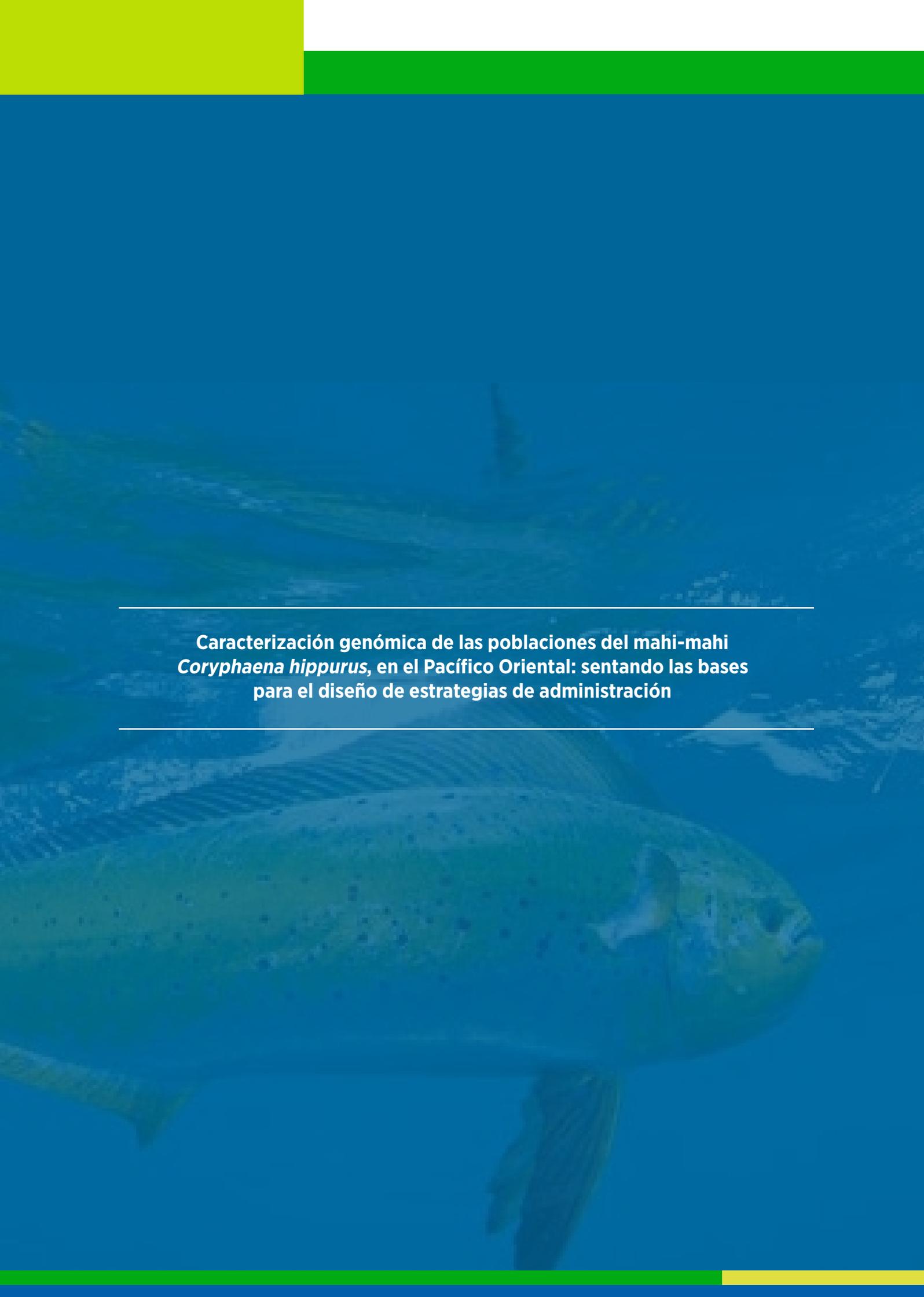
Tabla 3A. Análisis de varianza molecular (AMOVA) con base en las variantes outliers, de la especie *Coryphaena hippurus* considerando cinco grupos, a) individuos adultos y b) Individuos juveniles.

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



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