

CAPÍTULO 12

**Estudios genéticos de
algunas especies recurrentes en la fauna
de acompañamiento del camarón
en el Golfo de California: el chupalodo
Porichthys analis
(Hubbs y Schultz, 1939).**

Oscar González-Ochoa, Delia Irene Rojas-Posadas y
Norma Y. Hernández-Saavedra*

RESUMEN

El término biodiversidad implica varias escalas biológicas cuya evaluación es complicada. Esta diversidad es aprovechada a través de la pesca, que genera alteraciones a los ecosistemas y probablemente evolución inducida por la selectividad.

Palabras clave:
Diversidad genética
Chupalodo
Variabilidad genética
FAC
Golfo de California

Dada la importancia del Golfo de California y que el conocimiento de la variabilidad genética de las especies que lo habitan es incipiente, se propone evaluar su diversidad y las probables afecciones de la pesca, presentando como caso estudio el chupalodo *Porichthys analis*, que es una especie de la fauna de acompañamiento en la pesquería del camarón (FAC). Para ello, se tomaron muestras de la FAC de cruceros de investigación y de pesca comercial (2004-2005). Se realizó la identificación de las especies, se colectaron muestras de tejido muscular y se preservaron en alcohol (70%) hasta la extracción de ADN total, que se usó como templado en reacciones de amplificación mediante PCR. Se amplificaron regiones específicas del ADNmt: 16S, 467 pb; 12-16S, 2.400 pb. Los amplicones menores a 500 pb se secuenciaron y compararon con las bases de datos disponibles (Blast), mientras que los mayores fueron analizados

*Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste SC (CIBNOR), Mar Bermejo 195. Col. Playa Palo de Santa Rita. CP. 23090. La Paz, Baja California Sur, México.
Autor de correspondencia: E-mail: nhernan04@cibnor.mx

mediante RFLP, probando 11 endonucleasas. Se consideraron dos localidades: Lobos sujeta a pesca ($n = 10$) y El Colorado, libre de pesca ($n = 17$). Las estimaciones de diversidad derivadas de RFLPs (haplotípica: Lobos, 0.95; Colorado, 0.96; genotípica: Lobos 0.95, El Colorado 0.97), son ligeramente distintas de las obtenidas por secuenciación (haplotípica: Lobos 0.5, El Colorado 0.9; nucleotídica: Lobos 0.5, El Colorado 10.4). No obstante, el análisis AMOVA y de índice de fijación ($F_{st} = 0.50$, $P > 0.05$) no son significativos, ni tampoco prueba exacta de diferenciación poblacional ($P = 0.01$). La especie no presentó una distinción genética entre las poblaciones.

INTRODUCCIÓN

El término biodiversidad comprende cuatro escalas de variabilidad biológica: de genes, de especies, de ecosistemas y de paisaje (Féral 2002). No obstante, su evaluación en cualquiera de ellas resulta complicada. Por dicha razón, a pesar de lo poco representativo que pueda ser, se continúa utilizando el número de especies como indicador de biodiversidad, presentando los ambientes oceánicos una mayor biodiversidad que los dulceacuícolas o terrestres. De los 33 phyla reconocidos, 32 están presentes en el medio marino y 21 son exclusivamente marinos. Aunque albergan un mayor número de especies, el conocimiento que se tiene sobre la diversidad de las mismas es mucho menor que en las terrestres. Hasta el momento, se han descrito cerca de 250,000 especies marinas, a diferencia de los 1.7 millones de especies identificadas en ecosistemas terrestres (Figuroa 2005).

México cuenta con un extenso litoral de 11 mil kilómetros, además de los espacios marinos adyacentes a la costa (los mares territoriales y la zona económica exclusiva que abarca 2.9 millones de km^2). Por su conformación geográfica, el país comprende cuatro mares regionales principales: océano Pacífico, Golfo de California, Golfo de México y Mar Caribe. Sus características fisiográficas, derivadas de la interacción de procesos geológicos, oceanográficos, la confluencia de aguas tropicales y templadas, hacen que la biodiversidad marina tanto en número de especies, como en diversidad y endemismos sea digna de mención (SEMARNAT 2001). Tan solo en el Golfo de California se distribuyen más de 5,500 especies, la mayoría de ellas en aguas someras o intermareales, dado que al igual que en otros países, en México se cuenta con mayor información de estos

ambientes marinos, mientras que la fauna de los mares profundos es casi desconocida, tanto en el hábitat bentónico como en el pelágico.

La biodiversidad oceánica, provee una gran variedad beneficios para el humano, es la principal fuente de alimento, turismo, transporte, cultura y recreación para más de 100 países (Cohen 1997). Así, las especies marinas de peces, moluscos y crustáceos, aportan alrededor del 16% del total del consumo de proteína a escala mundial. Desafortunadamente, al igual que otras actividades humanas; la pesca directa o indirectamente causa deterioro y pérdida de la biodiversidad marina.

La pesca y sus efectos

El efecto más evidente de la actividad pesquera es la mortalidad de las especies objetivo de la pesca. Ante los procesos de sobreexplotación frecuentemente se argumenta que al volverse los rendimientos incosteables por escasez del recurso, ocurre la extinción económica de la especie, mucho antes que la extinción biológica, permitiendo la recuperación de las poblaciones. Sin embargo, este precepto no aplica en especies de alto valor comercial y escasamente reguladas, pues su valor aumenta conforme escasean, incentivando así su captura; o en aquellas que forman parte de pesquerías multiespecíficas o de la fauna de acompañamiento, pues no son sujetas de evaluaciones rutinarias (Dulvy *et al.* 2003). Más complejo de evaluar resulta el daño a las especies de la fauna de acompañamiento que no son objetivo de la captura, y de aquellas afectadas indirectamente por las alteraciones que la pesca genera en la estructura y función de los ecosistemas marinos. De éste modo, las especies marinas no pueden considerarse menos propensas a la extinción basado en su elevadas abundancias, su alta fecundidad y la capacidad de dispersión en el ambiente marino, pues al menos para la fecundidad, no parece existir evidencia que les confiera mayor resiliencia ante las reducciones registradas en la abundancia para gran parte de ellas (Dulvy *et al.* 2003, Reynolds *et al.* 2005)

Las afecciones son variadas en intensidad y escala, dependiendo de las artes y métodos de pesca utilizados, las comunidades biológicas implicadas y la historia de vida de las especies involucradas (Alverson *et al.* 1994, Rochet *et al.* 2000, Hutchings y Bakun 2005). Dichos efectos en los ecosistemas marinos han sido ampliamente considerados (Rosenberg 2003) y señalados como el

primer indicador de deterioro de su estado de salud (Díaz de León *et al.* 2004). Comprenden cambios en la biomasa y productividad de la biota asociada; en la estructura del hábitat; en la diversidad y tipo de especies que componen un sistema; (Jenings y Kaiser 1998, Rosenberg 2003), la remoción de depredadores tope (Myers y Worm 2003), en la variedad de las poblaciones de una especie; y entre las más insospechadas, la evolución genética inducida por la fuerza selectiva de la pesca (Kuparinen y Merilä 2007, Hutchings y Fraser 2008, Heino y Dieckmann 2008).

Más del 70% de los recursos pesqueros mundiales explotados se encuentran en deterioro o sobre sus niveles máximos de aprovechamiento (FAO 2001, Díaz de León 2004). Ante esta situación, a partir de 1998 en México se ha iniciado la integración de los primeros diagnósticos científicos (INP 1998, INP 2000) que han sustentado a la Carta Nacional Pesquera 2000, 2004 y 2006 (SEMARNAT 2000, SAGARPA 2004, SAGARPA 2006). En ella, se presentan aspectos técnicos de las pesquerías a través de indicadores que explican el estado de salud de los recursos sujetos a explotación, de las medidas de control, manejo y las instituciones asociadas.

Aunque la producción pesquera de México se basa en 587 especies marinas conocidas de peces, crustáceos, moluscos, equinodermos (erizos) y algas, la mitad de la producción pesquera del país descansa básicamente en tres pesquerías: la de pelágicos menores (sardinias y anchovetas) que comprende la tercera parte; la de túnidos (atunes, barriletes y bonitos) y la de camarón (SAGARPA 2002). Los efectos negativos de la pesca sobre la biodiversidad se empiezan a documentar en México. Así, se han encontrado evidencias de disminución de niveles tróficos en el ecosistema del Golfo de California (Sala *et al.* 2003), y de problemas de sustentabilidad (Díaz de León 2004). Se han detectado grupos genéticos en algunas de las especies de peces comerciales cuya distribución comprende el Golfo de California como *Paralabrax maculatofasciatus* (Stepien *et al.*, 2001), *Albula* sp. (Pfeiler 1996), sugiriéndose incluso en algunos casos afecciones en la variabilidad genética asociada a la explotación (Varela-Romero y Grijalva-Chon, 2004).

Estudios genéticos como una herramienta para determinar la estructura y salud de las poblaciones silvestres.

En la búsqueda del aprovechamiento de los recursos a largo plazo,

se ha tratado de elucidar la estructura poblacional de las especies y las consecuencias de su explotación. Se han utilizado variaciones de la distribución y abundancia geográfica y temporal, de caracteres morfométricos y merísticos, inmunológicos, de historia de vida, entre otras. El advenimiento, diversificación, estandarización y reducción de costos de las técnicas moleculares ha permitido que sean utilizadas con éste propósito, tanto en pesquerías como en acciones de conservación (Shaklee y Currens 2003).

Los primeros estudios moleculares que se efectuaron para discernir la variación genética poblacional, comprendieron electroforesis de alozimas, detectando que en los teleósteos marinos la heterocigosis oscila del 0.0 en el eglefino, *Lophius litulus*, el rape blanco *L. piscatorius*, el *Liparis tanakae* y tres especies de cotídeos, a más del 17% en el pelágico paparda del Pacífico *Cololabis saira* y en el costero fúndulo *Fundulus heteroclitus* (Smith 1996). Como promedio para 106 especies marinas fue del 5.5% arrojando altos niveles para los clupeiformes, ateriniformes y pleuronectiformes; y bajos niveles los gadiformes y los escorpeniformes (Smith y Fujio 1982), así como los elasmobranquios (Smith 1986). Posteriormente se han empleado los marcadores directos del ADN más sensibles, que han puesto de manifiesto una estructura más compleja de las poblaciones (Smith 1996). No obstante, no son muy abundantes los estudios sobre la diversidad del ADNmt en las especies marinas y la mayor parte de las especies ensayadas tienen baja diversidad de secuencia intraespecífica (Ovenden 1990). La proporción de la diversidad genética debida a la subdivisión de las poblaciones se eleva de 1.6 % en las especies marinas hasta 3.7 % en los anádromos y al 29.4 % en las especies de agua dulce (Gyllensten 1985). De este modo, las poblaciones de especies marinas están menos diferenciadas genéticamente que las especies de agua dulce, incluso cuando se estima con ADNmt (Avise *et al.* 1987); esto sucede probablemente debido a la mayor facilidad de las especies marinas a la dispersión o desplazamiento, estando sujetas a un mayor flujo genético (Waples 1987).

Algunas especies marinas difícilmente son afectadas por la deriva génica, aun cuando han sido severamente alteradas por intervenciones antropogénicas, mantenido tamaños efectivos suficientes para conservar su variabilidad (Stephenson y Kornfield 1990). En otros casos, se han reportado cambios en la variabilidad genética a través del tiempo, en ocasiones explicados por efectos de flujo genético

(Lacson y Morizot 1991). A pesar de esto, existe evidencia creciente de que las tasas usuales de explotación pueden contribuir a cambios evolutivos en las características de historia vital de las especies. Son pocos los estudios empíricos que han comprobado dichos impactos, a partir de muestras pretéritas recolectadas y analizadas mediante técnicas moleculares. Esto ha permitido detectar una disminución en la variabilidad genética y en algunas ocasiones relacionarla con disminuciones de la abundancia por sobreexplotación (Borisov 1979, Smith *et al.* 1991, Hauser *et al.* 2002, Hutchinson *et al.* 2003, Qiu-Hong *et al.* 2006). De manera alternativa y ante la carencia de registros históricos, se han utilizado herramientas de modelación para estimar la probabilidad y el tipo del posible impacto evolutivo (Andersen *et al.* 2007, Williams y Shertzer 2005, de Roos *et al.* 2006). En cualquier caso ha sido necesaria la disponibilidad de algún tipo de información genética de las especies. Aun así, resulta bastante complicado poder discernir entre los rasgos de historia vital, la proporción que es hereditaria y su capacidad de fijación, de aquella que surge como respuesta a factores ambientales diferentes de la presión selectiva de la pesca (Kuparinen y Merila 2007).

De manera general, la estimación de la variabilidad genética permite: 1) discriminar la diferenciación o estructura genética existente, cuando a partir de un conglomerado aparentemente homogéneo, se pueden discernir poblaciones distintas o especies crípticas, contribuyendo en el segundo caso al inventario de la diversidad como número de especies (Savolainen *et al.* 2005, Rubinoff 2006); 2) ya sea que se discriminen poblaciones de la misma especie o especies distintas, de ser necesario se pueden diseñar estrategias de manejo o explotación diferencial (Laikre *et al.* 2005); 3) inferir eventos demográficos pretéritos como expansiones y contracciones; o incluso presentes, como migraciones o flujo génico, tamaño poblacional efectivo (de Young y Honeycutt 2005, Hansen 2003); y 4) auxiliar en la designación de áreas de reserva (Palumbi 2003, Roberts *et al.* 2003).

Sin embargo, el nivel de conocimiento de la genética de poblaciones de la fauna íctica en el Golfo de California es incipiente, y las deficiencias en la información disponible impiden el análisis histórico sobre la biogeografía de las especies, o la diferenciación de stocks o grupos poblacionales con fines de manejo, por lo que este trabajo se sustenta en la segunda recomendación realizada en el

reporte “La diversidad genética de los recursos pesqueros marinos: Posibles repercusiones en la pesca” (Smith 1996) que textualmente cita: “Sería conveniente recopilar y registrar datos sobre los niveles de la diversidad genética en las especies explotadas, especialmente las explotadas recientemente o ligeramente. Hasta la fecha la mayor parte de los estudios genéticos se han centrado en la identificación de las poblaciones. Los conocimientos y recursos reunidos para estos estudios podrían adaptarse para los estudios internos de las poblaciones, y utilizar tanto los caracteres del ciclo biológico como los marcadores moleculares para examinar la genética del reclutamiento, y las variaciones genéticas de las poblaciones. Una combinación de estudios experimentales y de campo permitiría una comprobación más rigurosa de las variaciones genéticas en las poblaciones explotadas”. De acuerdo a lo anterior, en este trabajo se presenta como caso estudio los avances obtenidos, para el chupalodo *Porichthys analis* (Batrachoididae; Hubbs y Schultz 1939), que representa un 14.51 % de la fauna de acompañamiento del camarón (FAC) en la pesquería del Golfo de California.

El chupalido, Porichthys analis.

También conocido como chupalodo, sapo de luto o darkedge midshipman fish, es un pez marino demersal que habita en clima subtropical (32°N - 18°N), a profundidades que van desde los 0 a los 224 m (Robertson y Allen 2002). Se ha reportado en océano Pacífico Central Este, con una distribución que abarca el Golfo de California hasta la bahía de Tenacatita (Jalisco), México. Esta especie es prácticamente endémica del Golfo de California, una de las más grandes del género y ha sido catalogada como un recurso pesquero potencial (Collete 1995); aunque a la fecha carece de importancia económica. Algunas especies de la familia Batrachoididae se han utilizado en biomedicina, en investigaciones evolutivas y ecofisiológicas como modelo experimental (Wang y Walsh 2000, Walsh *et al.* 2004), pero el conocimiento de *P. analis* es incipiente. Recientemente González-Ochoa *et al.* (2009), estimaron algunos parámetros poblacionales importantes de la especie como: la relación talla-peso, los parámetros de crecimiento de von Bertalanffy, las tasas de mortalidad natural, y total, el patrón de reclutamiento (primavera-verano), la proporción sexual y la talla de primera madurez.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Las muestras provienen de las proximidades de la ciudad de Guaymas, Sonora (México), que está ubicada en el margen noreste del Golfo de California (Fig. 1). Las muestras se recolectaron en El Colorado (n = 24) una zona no sujeta a actividades de pesca (considerada como no impactada al norte de Guaymas y en Lobos, (n = 30) un área sujeta a actividades de arrastre durante las temporadas de pesca de camarón al sur de Guaymas. Las muestras se colectaron durante los meses de julio y agosto del 2004 a bordo del buque de investigación pesquera BIP XI.

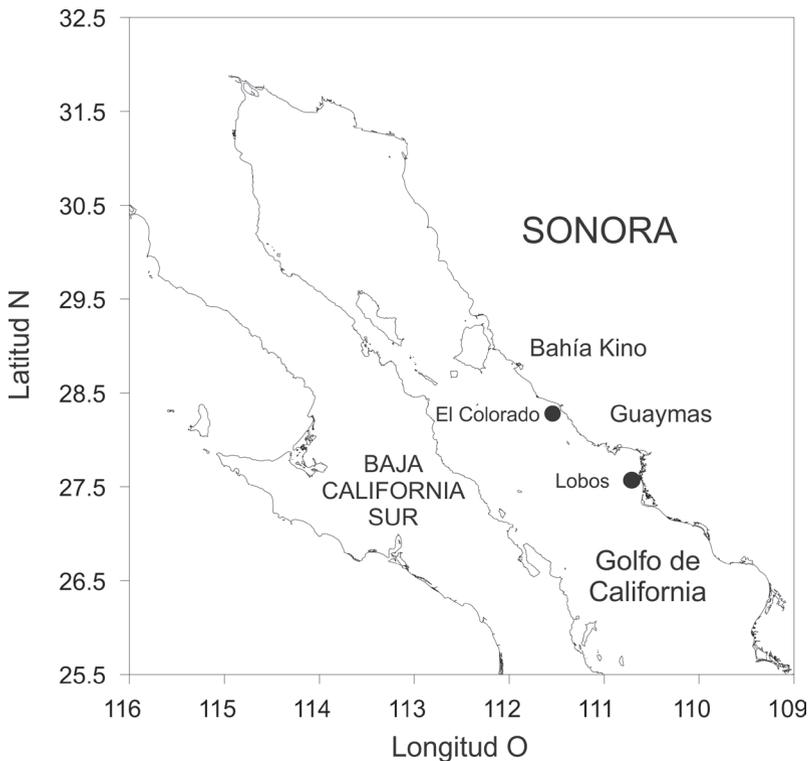


Figura 1. Mapa de localización de las áreas de muestreo de *P. analis* durante el verano de 2004 en el BIP XI.

Manejo de muestras

Una vez capturados los ejemplares se analizaron las variables morfométricas y merísticas necesarias para la identificación

taxonómica de los organismos. Posteriormente, se tomaron fracciones de tejido muscular de 1 cm³ que se transfirieron a tubos estériles en los que se fijaron con 2 volúmenes de etanol al 70%. Una vez fijados los tejidos en alcohol, se mantuvieron en refrigeración hasta su traslado al laboratorio (CIBNOR, La Paz).

Análisis de ácidos nucleicos

Se propuso como análisis de ácidos nucleicos, la secuenciación directa de fragmentos generados mediante la amplificación de fragmentos de ADN mitocondrial, específicamente la sección que codifica el gen 16S ADN ribosomal (ADNr), así como análisis PCR-RFLP como marcadores de variabilidad genética.

Aislamiento de ADN genómico

Se disectaron secciones cúbicas de tejido de aproximadamente 50-100 mg de peso. Los tejidos se colocaron independientemente en tubos para microcentrifuga (1.6 mL) con 1 ml de buffer de lisis (Tris 0.1M pH 8.0, EDTA 0.1M, NaCl 0.15M, b mercaptoetanol 2%, sarcosil 4%), y 6.6 µL de pronasa (3.3 mg/mL) (Sigma). Los tubos se incubaron (2 h, 45 °C), agitándolos cada 30 min y adicionando otros 6.6 µL de pronasa después de la primer hora de incubación. Se agregó cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y se centrifugó (17,000xg, 10 min, 25°C). La fase acuosa se recuperó en tubos nuevos y se le adicionaron 2 volúmenes de etanol absoluto para la precipitación de los ácidos nucleicos, incubándolos toda la noche a -20°C. Posteriormente, los tubos se centrifugaron (17,000xg, 20 min, 4°C) y el sobrenadante fue desechado; al botón obtenido (ADN) se le realizaron tres lavados con etanol 70%, centrifugando finalmente a 17,000xg. Para eliminar residuos de etanol los tubos se secaron al aire a temperatura ambiente y al pellet resultante se le agregaron 99 µL de TE y 1µL de ARNasa y se incubaron (1 h, 37°C). Posteriormente, se realizaron extracciones cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) de acuerdo al procedimiento antes mencionado. Finalmente, se cuantificó y determinó la pureza del ADN mediante espectrofotometría con luz UV por el método de Warburg-Christian (1941) y la integridad del ADN se verificó en geles de TBE/agarosa (Trizma Base 10mM, ácido bórico, 0.5M, EDTA 1mM pH 8.0) al 0.8% preteñidos con bromuro de etidio. La electroforesis se llevó a cabo en una cámara horizontal (Wide Mini-Sub Cell, Bio-Rad) a 70V

durante 1 h a temperatura ambiente. Los geles se observaron bajo luz UV y se documentaron fotográficamente mediante el sistema UVIDoc (UVP, England); para las reacciones de PCR se tomaron 100 ng de ADN de estas preparaciones:

PCR y PCR-RFLP (PCR-restricción fragment length polymorphism)

Cebadores: Los cebadores empleados fueron diseñados a partir de secuencias reportadas por diversos autores para ambas subunidades ribosomales (12S y 16S) de una gran variedad de peces, que flanquean zonas hipervariables: SM16F2 (5'-ACCTGTATGAATGGCA-3') y SM16R2 (5'-CTCAGATCACGTAGGA-3'), o SM12F1 (5'-ACCGCGTTATACGA-3') y SM16R2 (5'-CTCAGATCACGTAGGA-3') reveladas mediante análisis de alineamiento Blast con otras secuencias de vertebrados (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Como se muestra en la Figura 2 se realizaron dos tipos de amplificaciones: a) amplificación del fragmento hipervariable 16S de 476 pb (combinación I), y b) amplificación de un fragmento hipervariable combinado 12S-16S de 2,400 pb (combinación II).

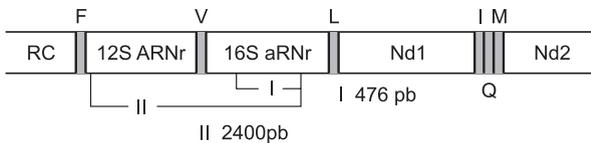


Figura 2. Representación esquemática de un fragmento del mapa genético del ADN mitocondrial de peces (modificado a partir de Meyer 1994).

Amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR): El ADN obtenido se usó como templado para la amplificación de fragmentos específicos correspondientes a ambas regiones ribosomales (combinaciones I y II). La mezcla de reacción contenía 1 µl de ADN (100 ng/µl), 1 µl (10 pM) de cada oligo, 5 µl de buffer PCR 10X, 1 µl de dNTP's (10mM), 18.3 µl de agua mili-Q estéril y 1U de Taq pol (0.2 µl). Finalmente, se adicionaron 30 µl de aceite mineral. Las mezclas de reacción fueron amplificadas en un termociclador Techne (GENIUS, Mod. FGEN05TP) bajo las siguientes condiciones: 5 min a 94°C (1 ciclo); 30 seg a 94°C/30 seg a 40°C/1 min a 72°C (40 ciclos) y finalmente, 10 min a 72°C (1 ciclo). Los productos de amplificación fueron separados en geles de agarosa/TBE al 1% preteñidos con bromuro de etidio, llevándose a cabo la electroforesis en una cámara horizontal (Wide Mini-Sub Cell, Bio-Rad) a 70 V durante 1 h a temperatura ambiente. Los geles se observaron bajo

luz UV en un transiluminador y se documentaron fotográficamente mediante el sistema UVIDoc (UVP, England). Los productos de PCR fueron purificados mediante el método de silica gel (Davies y Cook 2001) y secuenciados (MACROGEN, <http://www.macrogen.com>). Se realizaron análisis de alineamiento entre las secuencias obtenidas para la subunidad ribosomal 16S (para verificar la identidad de los fragmentos amplificados y realizar la determinación taxonómica molecular), usando el programa DNAMan; adicionalmente se realizaron análisis de alineamiento entre las secuencias obtenidas en el presente estudio y aquellas reportadas en el NCBI Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) para ambas subunidades ribosomales.

Análisis de RFLP y secuenciación: Se tomaron 5 μ l de los productos de PCR de la combinación II (2,400 pb) y se digirieron con las enzimas de restricción Alu I, Bam HI, Eco RI, Hae III, Hind III, Pst I y Sac I (Boehinger Mannheim \hat{a}). Las reacciones se llevaron a cabo de la siguiente manera: 5 μ l de ADN (de un stock 1 μ g/ μ l), 2.5 μ l de 10 X buffer, 0.2 μ l de la enzima a probar (de un stock 10 U/ μ l) y 21.3 μ l de agua destilada estéril. Las digestiones se incubaron a 37°C en un baño maría durante 2 h (Sambrook *et al.* 2001). Después del periodo de incubación los productos de la digestión se prepararon para la electroforesis adicionando 5 μ l de LB buffer (50% glicerol, 1 mM EDTA pH 8.0, 0.25 % de azul de bromofenol) a los 25 μ l de reacción. Estas preparaciones se analizaron en geles de agarosa al 1% en TBE 1X (Trizma-Base 10.8 g, ácido bórico 5.5 g; 4 ml de EDTA 0.5 M pH 8.0/por litro de tampón) preteñidos con bromuro de etidio (Sambrook *et al.* 2001). Los resultados se foto-documentaron y analizaron determinando el número y tamaño de las bandas obtenidas para generar una base de datos de patrones de bandeo para cada población y especie.

Se construyó un árbol de similitud para inferir visualmente estructura poblacional utilizando el método de UPMGA. Así mismo, un árbol filogenético estimando la distancia genética relativa por método de ligamiento Neighbor-Joining (Saitou y Nei 1987); y un bootstrap con 10,000 iteraciones. Para éste, se consultaron las bases internacionales de datos y mediante alineamiento con BLAST, se utilizaron las seis especies con las que se obtuvieron los mayores valores de identidad (Tabla 1) (fam. Batrachoididae, Clase Actinopterygii) y una especie de tiburón (Fam. Carcharhinidae, clase

Chondrichthyes) como grupo externo.

Para estimar la diversidad genética se empleó el índice de diversidad haplotípica de Nei y Tajima (1981). Se utilizó la prueba de neutralidad de Tajima (Tajima 1989a, Tajima 1996). Se estimaron los índices de fijación F_{ST} para determinar posible estructura

Tabla 1.- Análisis bioinformático de las secuencias de nucleótidos de los fragmentos hipervariables del gen 16S ribosomal del chupalodo *P. analis* y el Gen Bank mediante Blast.

Especie	Clave de Ejemplar	Localidad	Locus	Identidad (%)	Proporción (pb)
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0461C	Colorado	GQ904231	94	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0474C	Colorado	GQ904229	99	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0475C	Colorado	GQ904230	99	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0476C	Colorado	GQ904228	100	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0477C	Colorado	GQ904232	100	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0431L	Lobos	GQ904236	100	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0440L	Lobos	GQ904234	100	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0439L	Lobos	GQ904235	100	391/391
<i>Porichthys analis</i>	Po an 0445L	Lobos	GQ904233	100	391/391
<i>Porichthys myriaster</i>	NA	NA	AP006739.1	95	367/385
<i>Porichthys notatus</i>	NA	NA	AY820729.2	94	364/386
<i>Daector quadrizonatus</i>	NA	NA	DQ532862	87	322/367
<i>Opsanus beta</i>	NA	NA	DQ532925	86	317/368
<i>Thalassophryne amazonica</i>	NA	NA	DQ532971	85	314/366
<i>Opsanus tau</i>	NA	NA	AY292597	84	285/338

poblacional y la prueba exacta de diferenciación entre poblaciones (Raymond y Rousset 1995). Los anteriores análisis se efectuaron mediante el programa ARLEQUIN (Excoffier *et al.* 2006), tanto para los resultados de los patrones de corte generados con enzimas de restricción, como para las secuencias amplificadas por PCR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de ADN genómico y PCR

El estado del ADN de las muestras de peces fue aceptable aunque con cierta degradación; sin embargo, dada la sensibilidad de la técnica de PCR, fue posible obtener productos de amplificación al utilizar cebadores universales (Leyva 2002) que amplifican regiones específicas del ADN mitocondrial (ADNmt), específicamente regiones de los genes que codifican las subunidades ribosomales 12-16S y 16 S (Fig. 3). Como marcador en sistemática molecular y genética de poblaciones, el ADN mitocondrial presenta como

ventajas: 1) herencia exclusivamente materna, aunque con raras excepciones. 2) no está sujeto a recombinación y provee una serie de marcadores homólogos completamente ligados, que permiten la definición clara de genealogías maternas. Esto a su vez, puede permitir la discriminación entre ascendencia común y convergencia. 3) su tasa de mutación es mayor que el genoma nuclear, lo que potencializa la capacidad de estudios a escala poblacional (Billington 2003).

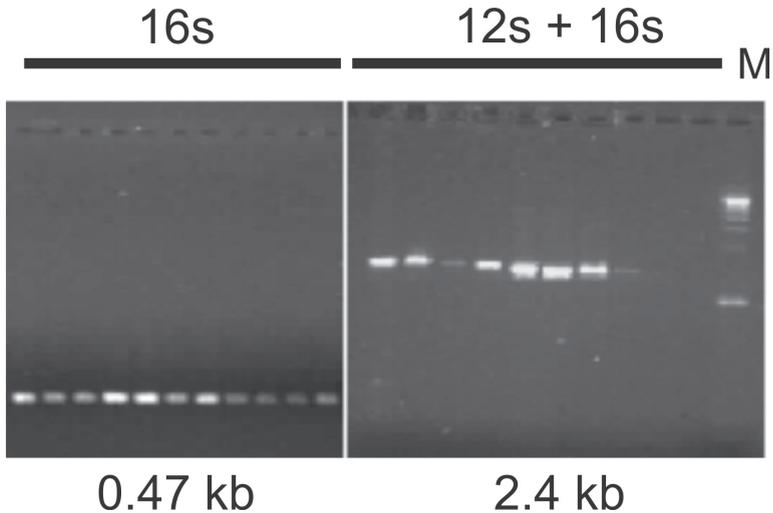


Figura 3. Electroforesis agarosa/TBE (1.5%) de amplicones de las regiones ribosomales 16S y 12S-16S (combinaciones de cebadores I y II) usando como templado ADN genómico. Técnica de tinción EtBr.

Secuenciación

Los 10 productos de PCR obtenidos con la combinación I de oligos (fragmento hipervariable del gen 16S; 5 para El Colorado y 5 para Lobos), se obtuvieron 9 secuencias de nucleótidos, de 391 bases. Los valores de diversidad se muestran en la Tabla 2. Las secuencias fueron ingresadas en los bancos de datos internacionales (NCBI) y el análisis de alineamiento mostró identidades entre las secuencias de *P. analis* del 94 al 100% (Tabla 1), agrupándose todos los organismos de Lobos en un solo clado, en tanto que algunos ejemplares provenientes de El Colorado, se agruparon con el clado de Lobos y otros fuera del mismo, sin formar un grupo compacto (Fig. 4). Aun así, la similitud entre organismos de *P. analis* es mayor que cuando se incluye en el arreglo otras especies del género, *P. myriaster* (95%) y *P. notatus* (92%).

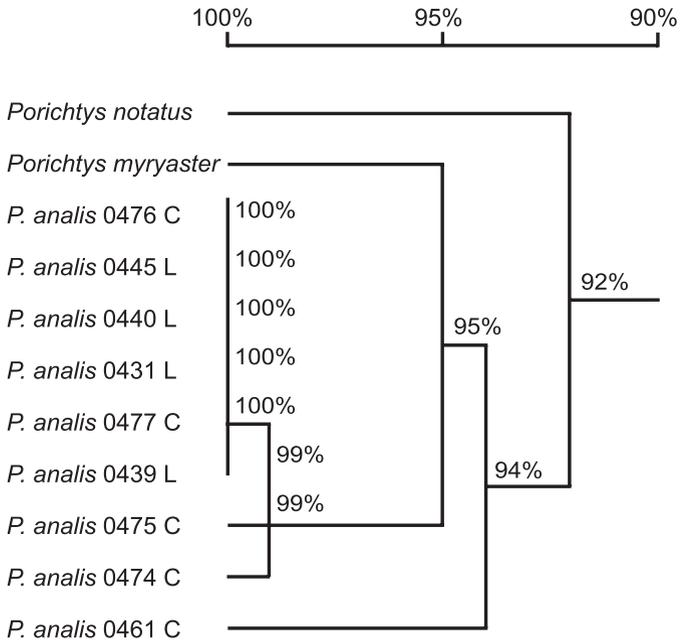


Figura 4. Cladograma de homología construido a partir de las secuencias ribosomales 16S de chupalodo *P. analis* recolectado en el Golfo de California en dos localidades: El Colorado y Lobos. Externo, *P. myriaster* (AP006739.1); método de ligamiento UPGMA (Sneath y Sokal 1973).

En la figura 5 se muestra el árbol filogenético. Nuevamente, los organismos de *P. analis* (Subfam. Porichthynae) presentan los menores valores de distancia genética entre sí y se agrupan en un solo clado, excepto un organismo procedente de El Colorado. En clados distintos y a mayor distancia se agrupan *Opsauns tau* y *O. beta* (Subfam. Batrachoidinae), *Daector quadrizonatus* y *Thalassophryne amazonica* (Subfam. Thalassophyrininae).

En la determinación de si existe la formación de grupos entre los organismos de *P. analis*, el valor del índice de fijación mediante comparación pareada de las secuencias entre El Colorado y Lobos

Tabla 2. Diversidad genética detectada entre las localidades de Lobos y el Colorado a partir de las secuencias y los RFLPs analizados.

Población	n	Diversidad				
		Secuencias		RFLPs		
		Nucleotídica (π)	Haplotípica (h)	Genotípica	Haplotípica (h)	
Lobos	4	0.5	0.5	10	0.95	0.95
Colorado	5	10.4	0.9	17	0.97	0.96

resultó no ser significativo ($F_{ST} = -0.048$, $P = 0.95$). La prueba exacta de diferenciación tampoco es significativa ($P=1.0$) por lo que no hay diferenciación entre las poblaciones Lobos y El Colorado, (Raymond y Rousset, 1995)

Análisis RFLP

Para la realización del análisis RFLP del chupalodo *P. analis*, se utilizaron amplicones de 2400 pb (SM12SF2-SM16SR2, combinación II). En la figura 6 se muestra patrones de restricción distinguibles que rindieron las enzimas Alu I, Hae III y Pst I y en los que se observan diferencias entre individuos de la misma especie (muestras Po an 0471-0477), por lo que con estos datos se calculó la variabilidad genética entre individuos analizados de las dos localidades. Los amplicones de 2,400 pb no rindieron productos de restricción con las enzimas Eco RI, Sac I, Hind III y Bam HI, por lo que estos datos no fueron utilizados para el análisis. A través de los PCR-RFPL se han logrado demostrar diferencias altamente significativas en frecuencias génicas de poblaciones dentro de amplias zonas geográficas (Elo 1995, García *et al.* 1994, Mattocchia *et al.* 1986) y ha sido ampliamente utilizado, ya que presenta las ventajas de: 1) no requerir muestras de tejido mayores a 500 mg; 2) ser relativamente sencilla y rápida de ejecutar (Sakallah *et al.* 1995, Williams *et al.* 1990); 3) ser suficientemente sensible para delimitar diferencias entre poblaciones y 4) tener resultados que corresponden con los de aloenzimas (Benzie *et al.* 1993).

Análisis de variabilidad genética

Se analizaron dos grupos de organismos de la misma especie, colectados con un mes de diferencia en localidades distintas (con base en grado de perturbación). Mediante la digestión de los amplicones de 2.4 kb obtenidos mediante PCR, se construyó una base de datos, siendo considerados como *loci* independientes cada una de las bandas generadas. Para este análisis, solo se consideraron los productos de digestión de las enzimas Alu I, Hae III y Pst I (fig. 6, Tabla 3), ya que las enzimas Eco RI, Sac I, Bam HI y Hind III no rindieron productos de digestión (datos no mostrados). Se identificaron 14 bandas polimórficas: 7 con Alu I, 4 con Hae III y 3 con Pst I y se generaron 21 haplotipos compuestos. La frecuencia de aparición de los *loci* se muestra en la figura 7 y Tabla 3. La

diversidad haplotípica estimada a partir de RFLPs fue de 0.98 (Lobos 0.95, Colorado 0.96). La diversidad genotípica fue de 0.97 para El Colorado y 0.95 para Lobos.



Figura 5. Árbol filogenético construido a partir de las secuencias ribosomales 16S de chupalodo *P. analis* del Golfo de California y las 6 especies con mayor homología de acuerdo al análisis Blast (tabla 2). Método de ligamiento Neighbor-Joining (Saitou y Nei 1987); bootstrap con 10,000 iteraciones.

La frecuencia de aparición de los diferentes haplotipos varía de acuerdo a la localidad muestreada (fig. 7). Esto aunado al resultado del árbol de homología sugiere que podría tratarse de poblaciones diferentes. En un análisis de varianza que incluye el valor del índice de fijación (F_{ST}), éste no es significativo (Tabla 4) y la prueba exacta de diferenciación indica que no existe distinción entre las poblaciones ($P = 0.01$).

En relación a los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica a partir de secuencias, son prácticamente mayores para el Colorado, la población no sujeta a actividad pesquera (no impactada). No obstante, esto podría deberse al menor número de muestra utilizado en los análisis con secuencias. Aunque también con reducido

número de muestras, podrían ser más confiables los denotados por los RFLPs, donde los valores de diversidad son similares para ambas poblaciones reforzando que se trata de un solo grupo genético.

El análisis mediante RFLPs ha sido usado en la muy sutil discriminación de grupos genéticos, sugiriendo la existencia dos grupos poblacionales de *Opsanus beta* en la costa este de Norteamérica (Avisé *et al.* 1987). La magnitud de la estructuración genética poblacional está parcialmente relacionada con patrones de historia de vida y con la capacidad de dispersión (Bay *et al.* 2006).

Tabla 3.- Frecuencia relativa de los haplotipos compuestos generados mediante el corte de amplicones (2400 pb) con las enzimas de restricción.

Haplotipo Compuesto	Enzimas												Frecuencia Relativa			
	Alu I	Alu I	Alu I	Alu I	Alu I	Alu I	Alu I	Hae III	Hae III	Hae III	Hae III	Pst I	Pst I	Pst I	Colorado (17)	Lobos (10)
1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
2	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
3	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0.1176	0.0000
4	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0.1180	0.0000
5	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0.0000	0.1000
6	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0.0000	0.1000
7	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
8	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
9	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0.0000	0.1000
10	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
11	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
12	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
13	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0.1176	0.0000
14	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
15	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0.0588	0.0000
16	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0.0000	0.2000
17	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0.0000	0.2000
18	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0.0000	0.1000
19	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0.0000	0.1000
20	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0.0000	0.1000
21	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0.1176	0.0000

Las especies de la familia Batrachoididae carecen de estadios larvales, por lo que su capacidad de dispersión podría

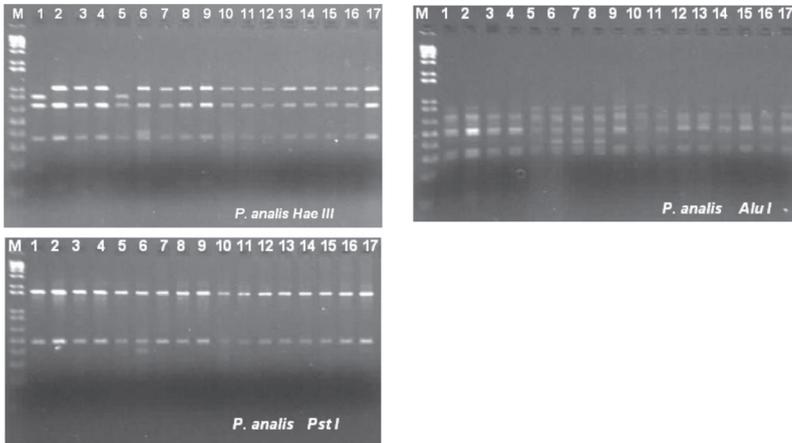


Figura 6. Análisis RFPL de amplicones de 2.4 Kb de chupalodo *P. analis*, de la localidad de El Colorado, contados con Alu I, Pst I y Hae III.

Tabla 4. Análisis de varianza y valor pareado del F_{ST} para las poblaciones de Lobos y el Colorado.

Fuente de Variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de la variación	Índice de fijación F_{ST}
Entre poblaciones	1	18.436	1.35856	50.57	
Dentro de las poblaciones	25	33.194	1.32776	49.43	
Total	26	51.630	2.68632		0.50573*

* El valor de P de F_{ST} no es significativo.

ser restringida al movimiento de juveniles y adultos. Riginos (2005) sugiere que algunas especies de peces costeros en Golfo de California presentan una leve diferenciación poblacional genética, evidenciable solamente por análisis de coalescencia. Quizá sería más evidente la distinción entre poblaciones del Golfo de California y la costa del Pacífico de la península de Baja California, como lo han comprobado Bernardi *et al.* (2003), aunque dicha diferenciación se habría generado por procesos naturales en la escala de tiempo geológica y no como presión selectiva por pesca. Saillant *et al.* (2006) mediante el análisis de microsatélites, no encontraron distinción de grupos poblacionales, ni una reducción en la variabilidad genética atribuible a la pesca en el pargo rojo *Lutjanus campechanus*. Por otro lado, algunas especies podrían tener una estructura metapoblacional difícil de distinguir con los marcadores genéticos selectivamente neutros (Pruett *et al.* 2005). En nuestro caso, se usaron marcadores

sometidos a selección (el gen ribosomal).

Es necesario incluir en los análisis otras localidades, tanto impactadas como no impactadas para determinar con mayor certeza, el efecto que podría tener la actividad pesquera en los parámetros poblacionales del chupalodo.

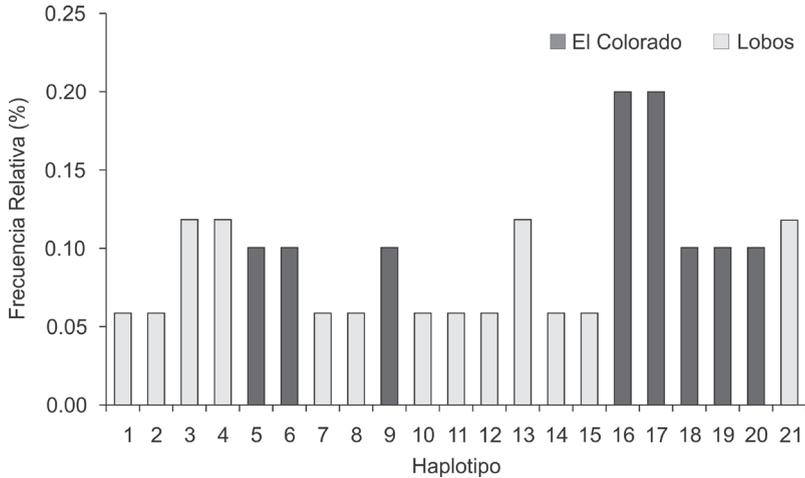


Figura 7. Frecuencia de los haplotipos derivados del análisis PCR-RFLP de fragmentos de 2.4 kb de *P. analis* colectado en dos localidades de la costa de Sonora: Lobos (impactada) y El Colorado (no impactada).

Aunque se determinó la variabilidad genética para la especie, la ausencia de registros previos, dificulta evaluar la manera en que el arte y método de pesca podrían afectar el acervo genético de la especie. De esto deriva la importancia de realizar este tipo de análisis de manera sistemática, el presente estudio se puede considerar como preliminar o el punto de partida, para tener elementos que permitan identificar los riesgos potenciales o reales de las especies que conforman la FAC ante la pesquería de camarón, ya que sin este tipo de estudios, todo lo que se puede argumentar a favor o en contra son especulaciones.

REFERENCIAS

- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Millar, W., Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucl. Acids Res.* 25: 3389-3402.
- Alverson, D. L., Freeberg, M. H., Pope, J. G., Murawski, S. A. (1994). A global assessment of fisheries bycatch and discards. *FAO Fish. Tech. Pap.* 339. Rome. 233 p.

- Andersen, K. H., Farnsworthb, K. D., Thygesena, U. H., Beyer, J. E. (2007). The evolutionary pressure from fishing on size at maturation of Baltic cod. *Ecol. Mod.* 204(1-2): 246-252.
- Avise, J. C. (1992). Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: A case history with lessons for conservation biology. *Oikos*. 63(1): 62-76.
- Avise, J. C., Reeb C. A., Saunders, N. C. (1987) Geographic population structure and species differences in mitochondrial DNA of mouthbrooding marine catfishes (Ariidae) and demersal spawning toadfishes (Batrachoididae). *Evolution*. 41(5): 991-1002.
- Bay, L. K., Crozier, R. H., Caley M. J. (2006). The relationship between population genetic structure and pelagic larval duration in coral reef fishes on the Great Barrier Reef. *Mar. Biol.* 149: 1247-1256.
- Benzie, J. A. H., Ballment, E., Frusher, S. (1993). Genetic structure of *Penaeus monodon* in Australia: concordant results from mtDNA and allozymes. In: Gall G. A. E., H. Chen (eds.), *Genetics in aquaculture*. Amsterdam, Netherlands. Elsevier.
- Bernardi, G., Findley, L., Rocha-Olivares, A. (2003) Vicariance and dispersal across Baja California in disjunct marine fish populations. *Evolution*. 57(7): 1599-1609.
- Billington, N. (2003). Mitochondrial DNA. In: *Populations Genetics. Principles and applications for fisheries scientists*. Fisheries Society. Bethesda, Maryland, U.S.A. 458 p.
- Borisov, V. M. (1979). The selective effect of fishing on the population structure of species with a long life cycle. *J. Ichthyol.* 18: 896-904.
- Cohen, J. E. (1997). Estimates of coastal populations. *Science*. 14: 233-238.
- Collete, B. B. (1995). Batrachoididae. Peje-sapos, sapos. In: W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter y V. H. Niem, (eds.), *Guía FAO para la identificación de las especies para los fines de la pesca. Pacífico centro oriental. Vol I plantas e invertebrados. Vol II parte 1. Vertebrados Vol III parte 2 Vetrebrados*. Roma, FAO.
- Davies, M., Cook, B. A. (2001). Status of the genetic and biochemical analysis of marine organisms in South Africa.
<http://www.nrf.ac.za/publications/marinerep/genetic.htm>. de Roos A. M., Boukal, D. S., Persson, L. (2006). Evolutionary regime shifts in age and size at maturation of exploited fish stocks. *Proceed. Royal Soc. B Biol. Sci.* 273(1596): 1873-1880.
- de Young R. W., Honeycutt, R. L. (2005). The molecular toolbox: Genetic techniques in wildlife ecology and management. *J. Wildlife Manage.* 69(4): 1362-1384.
- Díaz de León, A., Fernández, I., Álvarez, P., Ramírez, O., López, L. (2004). La sustentabilidad de las pesquerías del Golfo de México. In: *Diagnóstico ambiental del Golfo de México*, Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT, México.
- Dulvy, N. K., Sadovy, Y., Reynolds, J. E. (2003). Extinction vulnerability in marine populations. *Fish Fish.* 4: 25-64.
- Elo, K. (1995). Inheritance of RAPD markers and detection of interspecific hybridization with brown trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*. 153(1-2): 55-65.
- Excoffier L., Laval, G., Schneider, S. (2006). Arlequin ver 3.1. An integrated software package for population genetics data analysis. <http://cmpg.unibe.ch/>

- software/arlequin3
- FAO. (2001). State of the world Capture Fisheries and Aquaculture. United Nations Food and Agriculture Organization.
- Féral, J. P. (2001). How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity?. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 268: 121-145.
- Figueroa, B. E. (2005). Biodiversidad Marina: valoración, usos y perspectivas. ¿Hacia a donde va Chile?. Editorial Universitaria. Santiago de Chile, Chile. 585 p.
- García, D. K., Faggart, M. A., Rhoades, L., Alcivar, A. A., Wyban, J. A., Carr, W. H., Sweeney, J. N., Ebert, K. M. (1994). Genetic diversity of cultured *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3(5): 270-280.
- González-Ochoa, O. A., López-Martínez J., Hernández-Saavedra N. Y. (2009). Population characteristics of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* caught as shrimp bycatch in the Gulf of California. *Interciencia.* 34(11): 808-813.
- Gyllensten, U. (1985). The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous and freshwater species. *J. Fish Biol.* 26: 691-699.
- Hansen, M. M. (2003). Application of molecular markers in population and conservation genetics with special emphasis on fishes. Ph. D. Thesis, University of Aarhus. Danish Institute for Fisheries Research. Denmark.
- Hauser, L., Adcock, G. J., Smith, P. J., Bernal-Ramírez, J. H., Carvalho, G. R. (2002). Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*) PNAS. 99(18): 11742-11747.
- Heino, M., Dieckmann, U. (2008) Detecting fisheries -induced life-history evolution: an overview of the reaction norm approach. *Bull. Mar. Sci.* 83(1): 69-93.
- Hutchings, J. A., Fraser, D. J. (2008). The nature of fisheries- and farming-induced evolution. *Mol. Ecol.* 17: 294-313.
- Hutchings, J. A., Bakun, J. K. (2005). Measuring marine fish biodiversity: temporal changes in abundance, life history and demography. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 305: 315-338.
- Hutchinson, W. F., van Oosterhout, C., Rogers, S. I., Carvalho, G. R. (2003) Temporal analysis of archived samples indicates marked genetic changes in declining North Sea cod (*Gadus morhua*). *Proc. Biol. Sci.* 270: 2125-2132.
- INP. Instituto Nacional de la Pesca. (2000). Sustentabilidad y Pesca Responsable en México. Evaluación y manejo 1999-2000. Instituto Nacional de la Pesca. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, 420 p.
- INP. Instituto Nacional de la Pesca. (1998). Sustentabilidad y pesca Responsable en México. Evaluación y manejo 1997-1998. Instituto Nacional de la Pesca. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, 400 p.
- Jennings, S., Kaiser, M. (1998). The effects of fishing on marine ecosystems. *Adv. Mar. Biol.* 34: 201-35.
- Kuparinen, A., Merila, J. (2007). Detecting and managing fisheries induced evolution *Trends Ecol. Evol.* 22(12): 652-659.
- Lacson, J. M., Morizot, D. C. (1991). Temporal genetic variation in subpopulations of bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) inhabiting coral reefs in the Florida

- Keys. Mar. Biol. 110(3): 353-357.
- Laikre, L., Palm, S., Ryman, N. (2005). Genetic population structure of fishes: Implications for coastal zone management. *Ambio*. 34(2): 111-119.
- Leyva-Valencia, I. (2003) Marcadores moleculares para la identificación de la sardina del Pacífico (*Sardinops sagax caeruleus*). Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. CIBNOR. La Paz, B.C.S. México.
- Mattoccia, M., La Rosa, G., De Mattheais, E., Cobolli-Sbordoni, M., Sbordoni, V. (1986). Patterns of genetic variability and differentiation in Mediterranean populations of *Penaeus kerathurus* (Crustacea: Decapoda). In: K. Tiews (ed.), Selection, hybridization and genetic engineering in aquaculture.
- Meyer, A. (1994). DNA technology and phylogeny of fish. Capítulo 5. In: A. Beaumont, (ed.), Genetics and evolution of aquatic organisms. Chapman and Hall. London. pp. 219-249
- Morizot, D. C., Schmidt, M. E. (1990). Starch gel electrophoresis and histochemical visualization of proteins. In: D.H. Whitmore, (ed.), Electrophoretic and isoelectric focusing techniques in fisheries management. CRC Press. Boca Raton. pp. 23-80.
- Myers, R. A., Worm, B. (2003). Rapid worldwide depletion of predatory fish communities. *Nature*. 423: 280-283.
- Nei, M., Tajima, F. (1981). DNA polymorphism detectable by endonucleases. *Genetics*. 97:145-163
- Ovenden, J. R. (1990). Mitochondrial DNA and marine stock assessment: a review. *Austr. J. Mar. Freshw. Res.* 41: 835-853.
- Palumbi, S. R. (2003). Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecol. Appl.* 13:S146-S158.
- Pfeiler, E. (1996). Allozyme differences in Caribbean and Gulf of California populations of bonefishes (*Albula*). *Copeia*. 1:181-183.
- Pruett, C. L., Saillant, E., Gold, J. R. (2005). Historical population demography of red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the northern Gulf of Mexico based on analysis of sequences of mitochondrial DNA. *Mar. Biol.* 147: 593-602.
- Qiu-Hong, W., Sheng-Guo, F., Ya-Nan, L. (2003). The loss of genetic diversity in Dabry's sturgeon (*Acipenser dabryanus*, Dumeril) as revealed by DNA fingerprinting. *Aquat. Cons.* 13(3): 225-231.
- Raymond, M., Rousset, F. (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution*. 49: 1280-1283.
- Reynolds, J. D., Dulvy, N. K., Goodwin, N. B., Hutchings, J. A. (2005). Biology of extinction risk in marine fishes. *Proc. R. Soc. B.* 272: 2337-2344 .
- Riginos, C. (2005). Cryptic vicariance in Gulf of California fishes parallels vicariant patterns found in Baja California mammals and reptiles. *Evolution*. 59(12): 2678-2690.
- Roberts, C. M., Andelman, S., Branch, G., Bustamante, R. H., Castilla, J. C., Dugan, J., Halpern, B. S., Lafferty, K. D., Leslie, H., Lubchenco, J., McArdle, D., Possingham, H. P., Ruckelshaus, M., Warner, R. R. (2003). Ecological criteria for evaluating candidate sites for marine reserves. *Ecol. Appl.* 13(1): S199-S214.

- Robertson, D. R., Allen, G. R. (2002). Peces Costeros del Pacífico Oriental Tropical: Un sistema de información. Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales. Balboa, Rep. De Panamá. Programa interactivo C.D. Ver. 1.0.0.
- Rochet, M. J., Cornillon, P. A., Sabatier, R., Pontier, D. (2000). Comparative analysis of phylogenetic and fishing effects in life history patterns of teleost fishes. *Oikos*. 91: 255-270.
- Rubinoff, D. (2006). Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Cons. Biol.* 20(4): 1026-1033.
- SAGARPA. (2002). Anuario Estadístico Pesquero 2001. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.
- SAGARPA. (2004). Carta Nacional Pesquera 2004. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Diario Oficial de la Federación, Lunes 15 de Marzo del 2004. Órgano de Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos.
- SAGARPA. (2006). Carta Nacional Pesquera 2006. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Diario Oficial de la Federación, Viernes 25 de Agosto del 2006. Órgano de Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos.
- Saitou, N., Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Ecol.* 4: 406-425.
- Sakallah, S. A., Lanning, R. W., Cooper, D. (1995). DNA fingerprinting of crude bacterial lysates using degenerated RAPDS primers. *PCR Methods and Applications*. 4: 265-268.
- Sala, E., Aburto-Oropeza, O., Reza, M., Paredes, G., López-Lemus L. G. (2003). Fishing down coastal food webs in the Gulf of California. *Fisheries*. 29: 19-25.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: A laboratory manual. Vol. I, II y III. Cold Spring Harbor Lab. Press
- Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P., Roderick, G. K., Lane, R. (2005). Towards writing the encyclopedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 360: 1805-1811.
- SEMARNAT. (2000). Acuerdo por el que se aprueba la Carta Nacional Pesquera. Secretaria de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Diario Oficial de la Federación, Jueves 17 de Agosto del 2000. Órgano de Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos.
- SEMARNAT. (2001). Programa Nacional de Medio Ambiente y Recursos Naturales 2001-2006. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.
- Shaklee, J. B., Currens, K. P. (2003). Genetic stock identification and risk assessment. En: *Populations Genetics. Principles and applications for fisheries scientists*. Fisheries Society. Bethesda, Maryland, U.S.A. 458 pp.
- Smith, P. J. (1986). Low genetic variation in sharks. *Copeia*. (1): 202-207.
- Smith, P. J., Fujio, Y. (1982). Genetic variation in marine teleosts: high variability in habitat specialists and low variability in habitat generalists. *Mar. Biol.* 69: 7-20.

- Smith, P. J., Francis, C. C., McVeagh, M. (1991). Loss of genetic diversity due to fishing pressure. *Fish. Res.* 10: 309-310.
- Smith, P. J. (1996). La diversidad genética de los recursos pesqueros marinos: posibles repercusiones de la pesca. FAO Documento Técnico de Pesca. 344. Roma, FAO. 59 p.
- Sneath, T., Sokal, R. S. (1973). *Numerical Taxonomy*, San Francisco, USA.
- Stephenson, R. L., Kornfield, I. (1990). Reappearance of spawning Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) on Georges Bank: population resurgence not recolonization. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47: 1060-1064.
- Stepien, C. A., Rosenblatt, R. H., Bargmeyer, B. A. (2001). Phylogeography of the Spotted Sand Bass, *Paralabrax maculatofasciatus*: Divergence of Gulf of California and Pacific Coast Populations. *Evolution.* 55(9): 1852-1862.
- Tajima, F. (1989a). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics.* 123: 585-595.
- Tajima, F. (1996). The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. *Genetics.* 143: 1457-1465.
- Walsh P. J., We, Z., Wood C. M., Loong, A. M., Hiong, K. C., Lee, M. L., Wong, W. P., Chew, S. F., IP, Y. K. (2004). Nitrogen metabolism and excretion in *Allenbatrachus grunniens* (L): effects of variable salinity, confinement, high pH and ammonia loading. *J. Fish. Biol.* 65: 1392-1411.
- Wang, Y., Walsh, P. J. (2000). High ammonia tolerance in fishes of the family Batrachoididae (Toadfish and Midshipmen). *Aquat. Tox.* 50(3): 205-219.
- Waples, R. S. (1987). A Multispecies Approach to the Analysis of Gene Flow in Marine Shore Fishes. *Evolution.* 41(2): 385-400.
- Williams, E. H., Shertzer, K. W. (2005). Effects of fishing on growth traits: a simulation analysis. *Fish. Bull.* 103(2): 392-403.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. *Nucleic Acids Res.* 18(22): 6531-6535.

CITA DE CAPÍTULO 12

González-Ochoa, O., D. I. Rojas-Posadas y N. Y. Hernández-Saavedra. 2012. Estudios genéticos de algunas especies recurrentes en la fauna de acompañamiento del camarón en el Golfo de California: el chupalodo *Porichthys analis* (Hubbs y Schultz, 1939). En: López-Martínez J. y E. Morales-Bojórquez (Eds.). Efectos de la pesca de arrastre en el Golfo de California. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. y Fundación Produce Sonora, México, pp. 217-240.