



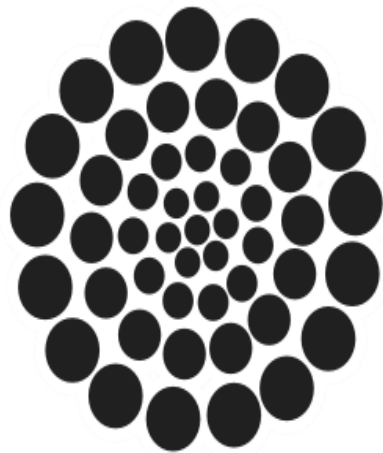
UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
*Iztapalapa*

**Filogeografía de *Mugil cephalus* L. 1758 (Mugiliformes: Mugilidae),  
en localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano**

TESIS  
Que para obtener el grado de  
Maestra en Biología

PRESENTA  
**HERNANDEZ PEREZ ZANNI**

La Maestría en Biología de la  
Universidad Autónoma Metropolitana  
pertenece al Padrón de  
Postgrados de Calidad del CONACyT.



**CONACYT**

*Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología*

El jurado designado por la

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**  
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

**HERNANDEZ PEREZ ZANNI**

El día 10 de Julio del año de 2018.

**Comité Tutorial y Jurado**

Tutora: Dra. Ana Laura Ibáñez Aguirre

Ana Laura Ibáñez A.

Co-tutor: Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero

Luis Manuel Guevara Chumacero

Asesora: Dra. Alejandra Serrato Díaz

Alejandra Serrato Díaz

Sinodal: Dra. Flor Rodríguez Gómez

Flor Rodríguez Gómez

Sinodal: M. en C. Héctor S. Espinosa Pérez

Héctor S. Espinosa Pérez

Sinodal: M. en C. Laura M. Márquez Valdelamar

Laura M. Márquez Valdelamar

**La presente investigación se llevó a cabo en:**

La Planta Experimental de Producción Acuícola (PEXPA) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa bajo la dirección de la

Dra. Ana Laura Ibáñez Aguirre

El Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa bajo la coordinación de la

Dra. Alejandra Serrato Díaz

## **Dedicatoria**

*A mis padres, Jesús Hernández Loaeza y Clara Pérez*

*por el apoyo incondicional siempre, gracias*

*por no limitar mis sueños.*

## Agradecimientos

Gracias a la Universidad Autónoma Metropolitana por permitir dar otro paso en mi formación académica y cumplir una meta más. A los que fungieron como coordinadores de la Maestría durante mi estancia en el posgrado, Dr. Miguel Ángel Armella y Dr. Francisco José Gutiérrez.

A la Dra. Ana Laura Ibáñez Aguirre, por confiar en mí desde el inicio, agradezco infinitamente la oportunidad de aprender acerca de organismos tan maravillosos e interesantes como los peces, especialmente, *M. cephalus*. Agradezco también cada minuto que se tomó para aconsejarme, corregirme y sobre todo guiarme durante el proyecto de investigación, lo aprecio mucho.

Al Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero, por introducirme al mundo de la filogeografía, pero sobre todo por el tiempo invertido en mi formación y la paciencia que me tuvo en cada momento. Gracias por todos los comentarios y exigencia que me han ayudado mucho, también por las palabras de aliento cuando sentía que ya no podía con esto, lo considero como mi *sensei*.

A la Dra. Alejandra Serrato Díaz, por todos los conocimientos, las tan atinadas sugerencias tanto en las revisiones de los carteles para los congresos así como en la tesis. Por el gran apoyo tanto en el laboratorio como en los congresos (sabes a que me refiero) que han ayudado a mi formación académica, infinitas gracias, eres mi ejemplo a seguir ¡Soy tu fan!

A los miembros del jurado, la Dra. Flor Rodríguez, el M. en C. Héctor Espinosa y la M. en C. Laura Marquez por su valioso tiempo y observaciones de esta tesis.

A las personas que colaboraron en las colectas: A Norman Boyd del Texas Parks and Wildlife Department, USA (líder del ecosistema de San Antonio Bay) y al Dr. James Simons (A&M Texas University) quienes recolectaron las muestras en Texas. A Greg Onorato del Florida Fish and Wildlife Conservation Commission's Fisheries-Independent Monitoring program por la colecta y envío de ejemplares de Florida. Al M. en B. Juan Juárez Flores de ECOSUR Villahermosa, por su ayuda en la colecta de ejemplares de las costas de Tabasco. Al Dr. F. Xavier Chiappa, Maribel Badillo, Fernando Mex y Alfredo Gallardo de la UNAM, Unidad Académica Sisal, por su ayuda en la colecta de ejemplares de Sisal, Yucatán. A la Dra. Elaine Espino Barr del CRIP-Manzanillo, por su ayuda en la colecta de ejemplares y permitirnos el uso de sus instalaciones para procesar las muestras en Manzanillo, Colima. Al Dr. Pedro Cervantes de la Universidad del Mar de Oaxaca por su ayuda en la colecta de ejemplares del Sistema Lagunar Huave de Oaxaca.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Biología Molecular, Aline, Memo, Daf, Karen, Angeles, Vic, Thalía, Yanin, por compartir buenos y malos momentos, de todo se aprende. Al "*equipo Mugil'*": Angie (por tu amistad, consejos y apoyo en laboratorio ¡Hicimos buena mancuerna!), Lizzet gracias por tu compañerismo y sobre todo tu amistad, gracias por todo el apoyo y a veces ser maestra sustituta. A mis compañeros de generación, los Alex's, Odemaris, Liz, Palomo, Gerardo, Zuriel, Diana, Verito, Mitzi, Diana y Yes, por compartir momentos de estrés y de risas.

A mis amigos de toda la vida y considero como mis hermanitos: Cris, Ivanete, Karlita, mil disculpas por perderme eventos importantes en sus vidas.

A mis hermanos y hermosos sobrinos que han alegrado mi vida y a mis alumnetos, espero ser una buena fuente de inspiración para ellos.

## Índice General

<b>Resumen</b> .....	17
<b>Abstract</b> .....	18
<b>1. Introducción</b> .....	19
<b>2. Marco Teórico</b> .....	20
2.1 Filogeografía.....	20
2.1.1 ADN mitocondrial.....	21
2.2 Marcadores moleculares	
2.2.1 Citocromo Oxidasa I.....	23
2.2.2 Región Control.....	23
2.3 Factores que pueden moldear la estructura genética de <i>M. cephalus</i>	
1.3.1 Historia Geológica de México.....	24
1.3.2 Formación del Istmo de Tehuantepec e Istmo de Panamá.....	26
1.3.3 Glaciaciones Pleistocénicas.....	27
1.3.4 Paleocorrientes.....	28
2.4 Biología y sistemática de <i>Mugil cephalus</i>	
1.4.1 Familia Mugilidae.....	29
2.4.1 Distribución de <i>Mugil cephalus</i> .....	29
2.4.2 Morfología de <i>M. cephalus</i> .....	30
2.4.3 Ecología y Reproducción de <i>M. cephalus</i> .....	31
2.4.4 Importancia ecológica y económica.....	32
<b>3. Antecedentes</b> .....	33
<b>4. Justificación</b> .....	36
<b>5. Pregunta de Investigación</b> .....	37
<b>6. Hipótesis</b> .....	37
<b>7. Objetivo General</b> .....	38



6.1 Objetivos Específicos.....	38
<b>8. Metodología.....</b>	<b>39</b>
8.1 Trabajo de campo. Colecta.....	39
8.2 Trabajo de Laboratorio.....	41
8.2.1 Extracción de ADN.....	41
8.2.2 PCR.....	42
8.2.3 Purificación.....	44
8.2.4 Secuenciación y Alineamiento.....	44
<b>9. Análisis de datos.....</b>	<b>45</b>
9.1 Patrones filogeográficos.....	45
9.1.1 Análisis filogenéticos intraespecíficos .....	45
9.1.2 Redes haplotípicas.....	46
9.1.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA).....	47
9.1.4 Flujo génico y Prueba de Mantel.....	47
9.1.5 Distancias genéticas.....	47
9.1.6 Diversidad genética.....	48
9.2 Eventos históricos.....	48
9.2.1 Tiempos de divergencia.....	48
9.2.2 Demografía histórica.....	49
<b>10. Resultados.....</b>	<b>50</b>
10.1 Patrones generales de variación.....	50
10.2 Patrones filogeográficos.....	55
10.2.1 Relaciones filogenéticas.....	55
10.2.2 Redes haplotípicas.....	57
10.2.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA).....	64
10.2.4 Flujo genético y Prueba de Mantel.....	66
10.2.5 Distancias genéticas.....	66
10.2.6 Índices de diversidad molecular.....	69
10.3 Eventos históricos.....	70
10.3.1 Tiempos de divergencia.....	70

10.3.2 Demografía histórica.....	71
<b>11. Discusión.....</b>	<b>76</b>
<b>12. Conclusiones.....</b>	<b>87</b>
<b>13. Recomendaciones.....</b>	<b>89</b>
<b>Literatura citada.....</b>	<b>90</b>
<b>Anexo I.....</b>	<b>104</b>
Protocolo de extracción de ADN con sal común modificado de Lopera-Barrero et al., 2008	
<b>Anexo II.....</b>	<b>105</b>
Lista de haplotipos de <i>Mugil cephalus</i> encontrados a partir de las secuencias de Citocromo Oxidasa I de la mitocondria en localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano.	
<b>Anexo III.....</b>	<b>106</b>
Lista de haplotipos de <i>Mugil cephalus</i> encontrados a partir de las secuencias de la región control de la mitocondria en localidades del Golfo de México	

## Índice de figuras

**Figura 1.** Ejemplar de *Mugil cephalus* (tomado de [www.uniprot.org](http://www.uniprot.org)).

**Figura 2.** Mapa con localidades muestreadas en el Golfo de México y Pacífico Mexicano para *Mugil cephalus*.

**Figura 3.** Representación del fragmento amplificado de Citocromo Oxidasa I en color verde.

**Figura 4.** Representación del fragmento amplificado de Región Control en color rojo.

**Figura 5.** Filogenia intraespecífica de *Mugil cephalus* basada en las secuencias de 635 pb del gen Citocromo Oxidasa I. Los valores sobre las ramas muestran el soporte estadístico en el siguiente orden, probabilidades posteriores de IB, y valores de bootstrap de NJ bajo el modelo de K2P, ML y MP con el método de TBR+TBR (Ci=84; Ri=93). La barra de escala = 0.04 sustituciones por sitio.

**Figura 6.** Filogenia intraespecífica de *Mugil cephalus* basada en las secuencias de 680 pb de la Región Control. Los valores sobre las ramas muestran el soporte estadístico en el siguiente orden, probabilidades posteriores de IB, y valores de bootstrap de NJ bajo el modelo de Tamura-Nei, ML y MP con el método de TBR+TBR (Ci=80; Ri=89). La barra de escala = 0.03 sustituciones por sitio.

**Figura 7.** Red de haplotipos obtenida con el programa TCS a partir de secuencias obtenidas del gen Citocromo Oxidasa I correspondientes a las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano. El rectángulo indica el haplotipo ancestral y el tamaño

de los círculos corresponde a la frecuencia haplotípica; los números en las líneas corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno.

**Figura 8.** Red de haplotipos obtenida con el programa Network a partir de secuencias obtenidas del gen Citocromo Oxidasa I correspondientes a las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano. El tamaño de los círculos corresponde a la frecuencia haplotípica, los números corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno y los rombos rojos son haplotipos hipotéticos.

**Figura 9.** Mapa de distribución de haplotipos para *M. cephalus* con base en COI. Haplotipos únicos (negro), haplotipos compartidos: h1 (dorado), h2 (menta), h5 (azul), h11 (morado), h19 (amarillo), h25 (azul), h26 (verde) y h29 (rosa).

**Figura 10.** Red de haplotipos obtenida con el programa TCS a partir de las secuencias de la Región Control de mitocondria correspondiente a las localidades del Golfo de México. Cada ovalo representa un haplotipo diferente. Los colores son asignados de acuerdo a la localidad y los números corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno.

**Figura 11.** Red de haplotipos obtenida con el programa Network a partir de las secuencias de la Región Control de la mitocondria correspondientes a las localidades del Golfo de México. El tamaño de los círculos corresponde a la frecuencia haplotípica, los colores son asignados de acuerdo a la localidad y los números corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno y los rombos rojos son haplotipos hipotéticos.

**Figura 12.** Distribución de las diferencias pareadas de las secuencias de *M. cephalus* del Golfo de México con base en el gen COI. La línea más oscura indica la distribución de los datos y la línea de color claro indica la distribución esperada bajo el modelo de expansión demográfica.

**Figura 13.** Distribución de las diferencias pareadas de las secuencias de *M. cephalus* en el Pacífico Mexicano en el gen COI. La línea más oscura indica la distribución de los datos y la línea de color claro indica la distribución esperada bajo el modelo de expansión demográfica.

**Figura 14.** Distribución de las diferencias pareadas de las secuencias de *M. cephalus* del Golfo de México con base en la región control. La línea más oscura indica la distribución de los datos y la línea de color claro indica la distribución esperada bajo el modelo de expansión demográfica.

## Índice de tablas

**Tabla 1.** Categorías de los patrones filogeográficos de acuerdo con Avise (2000).

**Tabla 2.** Localidades de colecta, con su respectiva clave, tamaño de muestra y año de colecta.

**Tabla 3.** Secuencias de cebadores seleccionados para la amplificación de los genes COI y RC.

**Tabla 4.** Distribución de haplotipos de *Mugil cephalus* con base en los marcadores mitocondriales Citocromo Oxidasa I (COI) y Región Control (RC).

**Tabla 5.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano de *Mugil cephalus* con base en Citocromo Oxidasa I.

**Tabla 6.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Golfo de México de *Mugil cephalus* con base en Citocromo Oxidasa I.

**Tabla 7.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Pacífico Mexicano de *Mugil cephalus* con base en Citocromo Oxidasa I.

**Tabla 8.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Golfo de México de *Mugil cephalus* con base en Región Control.

**Tabla 9.** Matriz de distancias genéticas entre localidades (Golfo de México y Pacífico Mexicano) con base en COI expresadas en porcentajes.

**Tabla 10.** Tabla de distancias genéticas (porcentajes) dentro de las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano con base en COI.

**Tabla 11.** Matriz de distancias genéticas (porcentajes) entre localidades del Golfo de México con base en la Rgión Control.

**Tabla 12.** Tabla de distancias genéticas (porcentajes) dentro de las localidades del Golfo de México con base en la región control.

**Tabla 13.** Índices de diversidad molecular para las poblaciones del Golfo de México y Pacífico Mexicano de *Mugil cephalus* con base en el gen citocromo oxidasa I (coi) y la región control (rc). Se indica el tamaño de muestra ( $n$ ), el número de haplotipos ( $k$ ), el número de sitios polimórficos ( $s$ ), la diversidad haplotípica ( $h$ ) y la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) de las secuencias analizadas.

**Tabla 14.** Análisis de distribución de las diferencias por pares de secuencias o mismatch con base en el gen COI ( $\tau$ : tiempo desde la expansión expresado en unidades de tiempo mutacional,  $\theta_0$ : teta inicial,  $\theta_1$ : teta final, SSD: suma de cuadrados de las desviaciones).

**Tabla 15.** Análisis de distribución de las diferencias por pares de secuencias o mismatch con base en el gen RC ( $\tau$ : tiempo desde la expansión expresado en unidades de tiempo mutacional,  $\theta_0$ : teta inicial,  $\theta_1$ : teta final, SSD: suma de cuadrados de las desviaciones).

**Tabla 16.** Diversidades genéticas de especies de peces que habitan los océanos Atlántico y Pacífico; diversidad haplotípica (h), diversidad nucleotídica ( $\pi$ ).



## Resumen

En este estudio se presenta el primer análisis filogeográfico de *Mugil cephalus* en México con el objetivo de identificar los procesos o eventos históricos que han influido en su distribución en costas mexicanas. Se secuenciaron 635 pb del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI) de 97 individuos de 10 localidades del Golfo de México y 30 individuos de 3 localidades del Pacífico Mexicano y 680 pb de la región control (RC) de 97 individuos del Golfo de México. Se evaluó la estructura y diversidad genética, además de la demografía histórica de las poblaciones, mediante análisis complementarios. Los análisis varianza molecular (AMOVA), distancias genéticas, redes de haplotipos, prueba de Mantel y relaciones filogenéticas coinciden en la presencia de dos haplogrupos: Golfo de México y Pacífico Mexicano separados por una distancia genética de 4.8%, ambos grupos divergieron hace 1.5 m. a. La separación de estos dos haplogrupos podría deberse a la formación del Istmo de Panamá y las glaciaciones durante el Pleistoceno. No se encontró evidencia de estructuración dentro de los haplogrupos. Se encontraron altos niveles de diversidad genética; a nivel poblacional los valores más altos con COI ( $h=0.85714$ ,  $\pi= 0.00405$ ) y RC ( $h=1$ ,  $\pi= 0.01791$ ) pertenecen a la localidad de Corpus Christi. Estos altos niveles de diversidad son generados por el alto flujo génico provocado por las corrientes oceánicas y podrían ser los principales factores que determinaron la dispersión y expansión de la especie.

## Abstract

This study presents the first analysis Phylogeographic of *Mugil cephalus* in Mexico with the aim of identifying the processes or historical events that have influenced their distribution in Mexican coasts. 635 bp of the mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) gene was sequenced from 97 individuals from 10 localities in the Gulf of Mexico and 30 individuals from 3 locations in the Mexican Pacific and 680 bp from the control region (RC) of 97 individuals from the Gulf of Mexico. The structure and genetic diversity, as well the historical demography of the populations, through complementary analysis were evaluated. Analysis of molecular variance (AMOVA) analyses, genetic distances, networks of haplotypes, Mantel test and phylogenetic relationships coincide in the presence of two haplogroups: Gulf of Mexico and Mexican Pacific, separated by a genetic distance of 4.8%, both groups diverged makes 1.5 my. The separation of these two groups could be due to the formation of the Isthmus of Panama and the glaciation during the Pleistocene. Within each haplogroup it was not found evidence of structuring. There were high levels of genetic diversity; the highest values with COI ( $h = 0.85714$ ,  $\pi = 0.00405$ ) and RC ( $h = 1$ ,  $\pi = 0.01791$ ) belong to the same locality (Corpus Christi), these high levels of diversity are generated by the high gene flow caused by ocean currents and could be the main factor that determined the dispersal and expansion of the species.

## 1. Introducción

La filogeografía estudia los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de los linajes genealógicos. Algunos de los enfoques más estudiados son la taxonomía y la conservación. En la taxonomía, básicamente se hace uso de la filogeografía para el reconocimiento y establecimiento de límites entre especies y, por otro lado, en la conservación, sobre todo en la definición de unidades de conservación y manejo (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009). Aunque, una de las aplicaciones más amplias de los estudios filogeográficos, ha sido el poder determinar el grado de estructuración poblacional de las especies a lo largo de su área de distribución, así como descifrar cuáles han sido los procesos que han determinado dicha distribución. Algunos de los procesos más relevantes que han influido en los patrones filogeográficos de organismos que habitan los océanos, son los eventos climáticos y geológicos.

Particularmente, en la mayoría de los estudios filogeográficos en peces, se han encontrado diferencias notables entre peces dulceacuícolas y marinos, con estructura pronunciada los primeros, en áreas pequeñas, hasta con distribuciones vastas y diferentes niveles de estructuración los segundos (Vázquez, 2007). Específicamente, con *Mugil cephalus*, especie de amplia distribución y de importancia comercial a nivel mundial, se han realizado investigaciones sobre todo en Asia encontrado diferentes patrones filogeográficos asociados a las migraciones de la especie, corrientes superficiales y periodos de aislamiento durante los ciclos glaciares e interglaciares, así como barreras geográficas (Ke *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2011).

En México, hasta ahora no se habían realizado investigaciones de este tipo con *Mugil cephalus*, por lo que los datos obtenidos indudablemente servirán para implementar futuros planes de manejo, ya que actualmente solo se tiene un Plan de Manejo Pesquero de la lisa en las costas de Tamaulipas y Veracruz (INAPESCA, 2014).

## **2. Marco Teórico**

### **2.1 Filogeografía**

La filogeografía es un área de estudio involucrada con los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes genealógicos, en particular a nivel intraespecífico (Avise, 1998). La filogeografía enfatiza aspectos históricos de la distribución espacial actual de linajes de genes utilizando información temporal (histórica) que ha sido posible obtener a partir del uso y análisis de la información contenida en las moléculas de ADN. Trata de interpretar la extensión y el modo en que los procesos demográficos históricos han dejado marcas evolutivas en la distribución geográfica actual de caracteres basados genéticamente (Avise, 2000). Avise *et al.*, (1987) observaron que los factores biogeográficos históricos, los factores ecológicos y la conducta de los organismos han jugado un papel fundamental al moldear la estructura genética de varias especies y a la síntesis de esos factores le llamaron patrones filogeográficos, los cuales han sido agrupados en cinco categorías: I, II, III, IV, V (Avise, 2000; **Tabla 1**).

**Tabla 1.** Categorías de los patrones filogeográficos de acuerdo con Avise (2000).

Patrones filogeográficos	
Categoría	Descripción
I	Árboles genéticos con divergencia antigua (linajes alopátricos), con haplogrupos restringidos a un área geográfica determinada, separados por distancias genéticas relativamente grandes.
II	Árbol génico con bifurcaciones profundas en algunas de sus ramas, cuyos linajes principales son simpátricos a lo largo de una amplia área geográfica. Posible zona de contacto secundario y mezcla de linajes que divergieron históricamente en alopatria.
III	Árbol genético con divergencia reciente de linajes alopátricos. La mayoría de los haplotipos están cercanamente relacionados y están localizados geográficamente cada uno por separado.
IV	Genealogía poco profunda, pero con linajes simpátricos, este patrón corresponde a especies con altos niveles de flujo génico y tamaños efectivos poblacionales moderados o pequeños, cuyas poblaciones no han sido divididas por barreras filogeográficas de largo plazo.
V	Genealogías superficiales en las que existen linajes comunes ampliamente distribuidos junto con linajes cercanamente relacionados que son exclusivos de localidades cercanas. Se asocia a niveles bajos a moderados de flujo génico contemporáneo entre poblaciones que habrían sufrido una expansión geográfica relativamente reciente.

### 2.1.1 ADN mitocondrial en filogeografía

Parte de la historia del surgimiento de la filogeografía está entrelazada con el desarrollo de técnicas moleculares, y el conocimiento de la molécula de ADN mitocondrial (ADNmt) a mediados de la década de los años 70. Entre las características moleculares que hacen especial al ADN mitocondrial animal, están el que es una molécula circular covalentemente cerrada, de tamaño relativamente pequeño (ca. 16-20 kb), conformada por un total de 37 genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia), además de una región conocida, en

vertebrados y equinodermos, como región control (ca. 1 kb) o D-loop (fragmento más pequeño dentro de la región control misma), que controla la replicación y transcripción en la molécula y tiene una tasa excepcionalmente alta de sustitución y de polimorfismo en muchos taxones (Brown, 1985; Wainscoat, 1987; Lunt *et al.*, 1998), posiblemente debido a que no codifica para proteínas.

Las propiedades más importantes del ADNmt en términos filogeográficos son su alta tasa evolutiva a nivel de secuencias de nucleótidos, su casi nula recombinación, gran variación intraespecífica, y su herencia estrictamente materna. Las variantes o haplotipos del ADNmt registran la historia matrilineal de eventos mutacionales, y pueden conectarse filogenéticamente en un filograma, el cual puede a su vez sobreponerse a la distribución geográfica del grupo de estudio, a fin de interpretar los procesos evolutivos responsables de la distribución actual de la especie o grupo de especies (Avice, 2000).

## **2.2 Marcadores moleculares**

Un marcador es una entidad genética que manifiesta polimorfismo y se hereda de manera mendeliana. Con el advenimiento de las técnicas de biología molecular aparecieron los marcadores genéticos moleculares basados en ADN que sirven de referencia para detectar la transmisión de un segmento de cromosoma de una generación a otra (Futuyma, 1997; Tiessen, 2012).

Los estudios de polimorfismos del ADN permiten inferir el nivel de variabilidad genética en un contexto espacial, el grado de flujo génico entre diferentes poblaciones locales,

y los grados de parentesco entre grupos de organismos (Hartl y Clark, 1997; Avise 2000, 2004).

### **2.2.1 Citocromo Oxidasa I (COI)**

Herbert *et al.*, (2003), propusieron que una sola secuencia génica sería suficiente para diferenciar todos, o al menos la gran mayoría de las especies animales. Por ello, propusieron el uso del gen de Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) del ADN mitocondrial como sistema mundial de bio-identificación para los animales, los autores mencionan que las diferencias entre secuencias y su alta diversidad son suficientes para poder asignar de manera confiable a los organismos en categorías taxonómicas inferiores y superiores. Actualmente, ha sido utilizado para discriminar especies e inferir las relaciones filogenéticas en peces y otros organismos (Ward *et al.*, 2005).

### **2.2.2 Región Control (RC)**

El genoma mitocondrial incluye una región no codificadora conocida como Región Control o D-Loop, que sirve como el origen de replicación para el genoma mitocondrial. Es la región con mayor tasa evolutiva y el mayor nivel de variación y es usado como un marcador útil para el estudio de la estructura genética de especies recientemente divergentes, poblaciones o especies cercanamente relacionadas (Avise, 1994; Parker *et al.*, 1998). Además, es un marcador genético ampliamente usado para inferir la historia filogeográfica de especies (Brown *et al.*, 1993; Avise, 2000).

## **2.3 Factores que pueden moldear la estructura poblacional de *Mugil cephalus***

La distribución de las especies no es azarosa, sigue patrones que responden a diferentes factores actuales o pasados, tales como movimientos tectónicos. Se sabe que durante el pasado geológico, los movimientos de placas fueron responsables de muchos cambios climáticos, a medida que los continentes se desplazaban unos en relación con otros y se dirigían a posiciones latitudinales diferentes. También debieron ocurrir cambios en la circulación oceánica, que alteraron el transporte del calor y la humedad, y, por consiguiente, también el clima, esto ha sido reportado por ejemplo, en el pez aguja (*Syngnathus typhle*), una de las especies de peces costeros europeos más extendidos, utilizando microsatelites y la región control mitocondrial analizaron la influencia de la glaciación del Pleistoceno y la reducción de los niveles del mar en su filogeografía, detectando una fuerte señal de recolonización postglacial en los extremos norte y este de la distribución de la especie, mientras que las poblaciones del sur parecen haber sido relativamente poco afectadas por el último ciclo glacial. (Hubbs, 1948; Chenoweth, *et al.*, 2002; Clark *et al.*, 2009; Wilson y Eigenmann, 2010).

### **2.3.1 Historia geológica de México**

Hace unos 60 m.a., en el pasado geológico de las placas en México, existía entre la placa del Pacífico y la de Norteamérica, una placa llamada Farallón que ocupaba gran parte del oeste de la placa Norteamericana y era consumida por una trinchera que existía a todo lo largo de la costa de Norteamérica; hasta que comenzó a desaparecer la placa Farallón, entraron en contacto las placas Pacífica y Norteamérica siendo el origen de diversos accidentes como la falla de San Andrés. La placa de Norteamérica, en su migración hacia el occidente, asimiló progresivamente, a las oceánicas Farallón



y Kula (ubicada originalmente al Norte de donde hoy está la placa Juan de Fuca), generándose así el Arco Volcánico Marginal en el borde occidental de México y del noroeste de Sudamérica. La Placa Juan de Fuca, la Placa de Cocos y la Placa de Nazca son los restos que aún quedan de la antigua Placa de Farallón. En una etapa tectónica posterior, la porción sur de la actual Península de Baja California se separó del resto del continente y las aguas oceánicas del Pacífico inundaron esa porción; el rompimiento y el desplazamiento de la península se debieron al movimiento de la Placa de Norteamérica hacia el occidente que asimiló a la del Pacífico oriental. Una vez en el interior, los esfuerzos distensivos formaron el Golfo de California (SGM, 2014).

Por otro lado, durante los desplazamientos de las placas Pacífico hacia el noroeste, Norteamérica hacia el occidente, Cocos hacia el noreste y Caribe hacia el oriente, la porción media de México se convirtió en una zona de debilidad cortical facilitándose así la formación desde el Océano Pacífico hasta el Golfo de México del Cinturón Volcánico Transmexicano (CVT) o Eje Neovolcánico (fusión de la corteza oceánica de la Placa de Cocos). El movimiento simultáneo de las cuatro placas tectónicas a las que se debe la configuración actual de México son: La Norteamérica con desplazamiento hacia el suroccidente; la del Pacífico oriental hacia el noroccidente; la de Cocos hacia el nororiente y la del Caribe hacia el oriente franco (SGM, 2014).

La información anterior resulta importante dado que dichos movimientos de placas pudieran actuar como barreras al flujo genético de las poblaciones de *Mugil cephalus* o en el caso contrario, encontrar homogeneidad genética que pudiera ser explicada por la evolución geológica de México.

### 2.3.2 Formación del Istmo de Tehuantepec e Istmo de Panamá

Otro proceso tectónico importante es la formación del Istmo de Tehuantepec hace 6 m.a. (Manea y Manea, 2005), su formación y evolución están estrechamente relacionadas con la evolución tectónica del Golfo de México y del margen Pacífico (Velasquillo, 1994).

Además, la formación del Istmo de Panamá, resultado del movimiento de las distintas placas tectónicas, movió la base ígnea del Istmo a su actual posición mientras que el vulcanismo, provocado por la subducción de las placas del Pacífico, agregó material al arco insular que es el eje principal del Istmo (Coates y Obando 1996; O'Dea *et al.*, 2007). El Istmo de Panamá permitió la unión entre América del Norte, Centro y América del Sur, sin embargo, dicho proceso evitó la conexión entre el Pacífico oriental y el Atlántico occidental. Este cierre de comunicación entre Pacífico-Atlántico ha sido estimado por diversos autores, como Emiliani *et al.*, (1972) quienes calculan que la conexión oceánica fue eliminada aproximadamente hace 6 m.a. En contraste, Haug y Tiedemann (1998) sugieren que el cierre fue hace 4.6 ma. Sin embargo, los datos más aceptados son las estimaciones basadas en foraminíferos, proporciones de isótopos y fósiles de moluscos que datan este evento entre 2.7 y 3.5 ma. (Keigwin, 1982; Coates *et al.*, 1992; Coates y Obando, 1996). Este hecho afectó cada una de las cuencas cambiando rasgos batimétricos, topográficos, características físicas y químicas y la circulación oceánica.

La historia geológica tanto de México como del continente americano resulta importante dado que los movimientos o procesos históricos pueden influir en los patrones filogeográficos provocando eventos de migración y/o vicarianza.

### **2.3.3 Glaciaciones pleistocénicas**

Los ciclos de avances glaciales pleistocénicos constituyen uno de los procesos geológicos y climáticos más radicales que han afectado la distribución y diversidad de la biota actual. La principal consecuencia que experimentan las especies expuestas al cambio climático abrupto es el cambio en su distribución geográfica siguiendo, o persistiendo, en hábitats favorables durante la glaciación y la posterior recolonización de áreas expuestas por el retroceso glacial (Rodríguez-Serrano, 2011).

Se estima que durante el Pleistoceno estuvieron presentes varios períodos glaciares caracterizados por grandes acumulaciones de hielo en los polos, que hacían descender el nivel del mar en las costas no afectadas por estos glaciares, seguidos por períodos interglaciares o de deshielo, en los que aumentaba el nivel del mar en las mismas zonas litorales. Lankford (1977) menciona tres eventos que tienen relación con las lagunas costeras modernas. El primero fue la estabilización de la línea de costa durante la etapa interglaciar Sangamon, hace aproximadamente 120,000 años antes del presente (a.p.), elevándose entre los 5 y 8 m sobre el nivel del mar actual. El segundo evento fue hace 18,000 años a.p. y está asociado con el máximo de la etapa de glaciación Wisconsin, cuando el nivel del mar descendió aproximadamente 130 m bajo el nivel actual. El tercer evento está referido a la estabilización de la línea de costa cuando el nivel marino redujo considerablemente su velocidad de ascenso, hace

aproximadamente 5,000 años a.p. Durante este lapso se originó sedimentación progradante (los sedimentos se acumularon en la cuenca) y formación de barreras arenosas (Curry *et al.*, 1969) formando así las lagunas costeras de barrera.

Además de las oscilaciones del nivel del mar durante el Pleistoceno, hubo cambios en la temperatura del agua que disminuía drásticamente, alteraciones en la salinidad y la concentración de nutrientes. Todos estos procesos también pueden afectar la diversidad genética de las especies, así como expandir o contraer el rango geográfico.

#### **2.3.4 Paleocorrientes**

Los modelos de las corrientes oceánicas globales muestran que la mayoría de las aguas superficiales que fluían a través de una vía marítima centroamericana abierta, lo harían desde el Pacífico tropical oriental hacia el Caribe y Golfo de México (Schneider y Schmittner, 2006).

Existe evidencia de que los patrones globales de circulación de aguas oceánicas se alteraron debido a la formación del Istmo, y estos cambios pudieron haber dado inicio a la glaciación del hemisferio norte (Cronin y Dowsett, 1996), creando las condiciones que han dominado el clima global durante los últimos 2 m.a.

Tomar en cuenta las corrientes oceánicas en el presente estudio es relevante ya que las corrientes pueden promover el flujo génico o actuar como barreras físicas, provocando eventos vicariantes como ha ocurrido con *Mugil cephalus* en costas de China (Shen *et al.*, 2011).

## **2.4 Biología de *Mugil cephalus***

### **2.4.1 Familia Mugilidae**

Los Mugílidos son peces que se encuentran en ambientes marinos costeros, estuarinos y de agua dulce en las regiones tropicales, subtropicales y templadas de todos los continentes (Thomson, 1997; Harrison, 2003; Nelson, 2006). Las diferencias merísticas y de morfología externa han sido con frecuencia el principal medio para establecer la diferenciación taxonómica entre géneros de la Familia Mugilidae. Sin embargo, las diferencias interespecíficas a menudo no son claramente diferentes de las intraespecíficas, dando lugar a numerosos problemas de nomenclatura y taxonomía. De acuerdo con Eschmeyer y Fong (2015) la familia Mugilidae comprende un total de 25 géneros y 74 especies válidas, 16 de las cuales pertenecen al género *Mugil*.

Dos especies presentan la mayor divergencia genética a nivel intrafamiliar: *M. curema* y *M. cephalus* (Caldara *et al.*, 1996). Estas dos especies son consideradas como un complejo de especies por Durand *et al.*, (2012) y como especies crípticas por Durand y Borsa, (2015) y Durand *et al.*, (2016).

### **2.4.2 Distribución de *Mugil cephalus***

La lisa rayada como se le conoce a *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) se distribuye ampliamente en aguas costeras, lagunas y estuarios entre 42°N y 42°S. Su distribución en el Pacífico oriental abarca desde el sur de California hasta Chile e Islas Galápagos (Harrison, 1995) y en el Atlántico occidental desde Nueva Escocia hasta Argentina, incluyendo el Golfo de México (Harrison, 2002). Sin embargo, de acuerdo con

Menezes *et al.*, (2010), *M. cephalus* ha sido confundida con *M. liza* en la zona costera de Sudamérica por lo que la distribución de la lisa rayada se restringe al Caribe en la costa oriental de América. En el Atlántico oriental habita desde Francia hasta Sudáfrica incluyendo el Mar Mediterráneo y el Mar Negro (De Silva y Silva, 1979).

### **2.4.3 Morfología**

Las características morfológicas que identifican a *Mugil cephalus* son: cuerpo cilíndrico, robusto, cabeza ancha, párpado adiposo bien desarrollado, cubriendo la mayor parte de la pupila; labio superior delgado, sin papilas, dientes labiales de la mandíbula superior pequeños, rectos y densos, normalmente en varias líneas. Dos aletas dorsales; la primera con cuatro espinas y la segunda con 8-9 rayos suaves; aleta anal con 8 rayos suaves; aletas pectorales con 16-19 rayos; 2 sacos pilóricos. Escamas en series laterales 36-45. Color del dorso: azul/verdoso, flancos y abdomen pálido o plateado; escamas en el dorso y flancos alineadas para formar rayas longitudinales; mancha axilar pectoral oscura (FAO, 2009; Harrison, 2002). Estas características la distinguen de su especie hermana más cercana que morfológicamente se caracteriza por presentar de 9 a 10 rayos blandos en la segunda dorsal, 3 espinas en la aleta anal, de 35 a 39 escamas en la serie longitudinal y de 17 a 19 en la serie circumpeduncular, costados de color plateado uniforme, con una mancha dorada sobre el opérculo y otra, negra y pequeña, en la base de la aleta pectoral (Harrison, 2002).



**Figura 1.** Ejemplar de *Mugil cephalus* (tomado de [www.uniprot.org](http://www.uniprot.org)).

#### **2.4.4 Ecología y reproducción**

Son peces eurihalinos que pueden tolerar una amplia gama de salinidades, permanecen la mayor parte de sus vidas en aguas salobres de salinidad variable, pero pasan un periodo corto en aguas marinas con fines reproductivos, el cual involucra la liberación de los gametos en el agua (González-Castro y Minos, 2016), su productividad es mayor en los estuarios que mar adentro, es decir, buscan el mejor ambiente para sobrevivir, crecer y reproducirse (Ibáñez *et al.*, 2012).

En el Golfo de México, la migración reproductiva es sincrónica estimulada por los frentes fríos de la temporada de Nortes que se efectúan entre septiembre y enero (extendiéndose en ocasiones hasta abril), y se presenta de manera simultánea en toda el área por efecto de factores ambientales (Ibáñez y Gutiérrez-Benítez, 2004; Ibáñez y Colín, 2014). Para el Pacífico Mexicano, en las costas de Sinaloa el periodo reproductivo se extiende de octubre a febrero donde de diciembre a enero es más

intensa la frecuencia de desove (Briones-Ávila, 1998). Gil-López *et al.*, (2006) mencionan que la madurez y la reproducción de la lisa cabezona abarcan de noviembre a enero en el Sistema Lagunar Huave, Oaxaca. El índice gonadosomático y las variaciones del factor de condición indican que el periodo reproductivo de la lisa en los sistemas lagunares Huave, Oaxaca y Mar Muerto, Chiapas abarca los meses de noviembre, diciembre y enero y que después del periodo reproductivo hay incremento de organismos desovados, inmaduros y en proceso de maduración (Gil-López *et al.*, 2006; Ramos-Santiago *et al.*, 2010). En la Laguna de Cuyutlán en Colima, el índice gonadosomático muestra sus valores máximos en noviembre, diciembre y enero y un segundo período muy pequeño ocurre durante septiembre y octubre (Espino-Barr *et al.*, 2016).

Los huevos y las larvas forman parte del plancton en mar abierto durante los primeros dos o tres meses de vida y posteriormente migran a cuerpos de agua protegidos (Díaz-Pardo y Hernández-Vázquez, 1980; Collins, 1985; Ditty y Shaw, 1996; Gómez-Ortiz, 2002). Las larvas se dispersan en el océano a través de una interacción entre procesos físicos y biológicos, como corrientes oceánicas, corrientes de viento, natación horizontal y tasas de crecimiento (Cowen y Sponaugle, 2009).

#### **2.4.5 Importancia ecológica y económica**

*Mugil cephalus* constituye un recurso pesquero de importancia en los sistemas costeros mexicanos; por sus hábitos alimenticios de tipo detritívoro, es una especie que bioacumula una gran cantidad de metales pesados (Amalacher, 1961). La lisa



rayada tiene gran importancia comercial debido al consumo de su carne y de su gónada femenina; éstas son comercializadas en el mercado a nivel nacional e internacional, principalmente son consumidas en varios países asiáticos (FAO, 2016). En México, la pesca de lisa rayada se encuentra posicionada en el lugar número 22 de la producción pesquera nacional, mientras que por su valor monetario se encuentra en el lugar número 31 (SAGARPA, 2011).

### **3. Antecedentes**

El único trabajo de *M. cephalus*, con un enfoque microevolutivo realizado en aguas mexicanas es el de Colín (2014), quien utilizó microsatélites para analizar la diversidad genética entre poblaciones del Golfo de México y del Pacífico Mexicano. Los resultados indicaron que el Golfo de México presenta un alto grado de polimorfismo y una alta variabilidad genética, presenta alelos exclusivos en muchas de las localidades y no hay aislamiento por distancia. Los análisis mostraron un alto grado de flujo génico entre las localidades. En el Pacífico las localidades de Mazatlán y Cuyutlán se encuentran en Equilibrio de Hardy-Weinberg y el análisis de estructura genética establece que no hay diferencias entre éstas, existiendo un alto grado de intercambio genético. Las localidades del Pacífico Mexicano presentan una alta riqueza alélica. El análisis de estructura y la prueba de Mantel separan claramente ambos litorales, indicando la presencia de dos grupos definidos; la comparación entre ambos litorales revela que la riqueza alélica es más baja para el Pacífico Mexicano que para el Golfo de México.

Por otro lado, Rocha-Olivares *et al.*, (2005) utilizaron la región control del ADN mitocondrial para analizar cuatro localidades del norte del Golfo de México, una localidad del Atlántico y una de Hawaii. Los resultados indicaron estructuración genética entre las poblaciones del norte del Golfo y el Atlántico con respecto a la del Pacífico debido a un aislamiento por distancia y una ausencia de estructura entre el norte del Golfo de México y el Atlántico. La distancia genética obtenida separa al Pacífico y al Atlántico por un intervalo de 25-45 %.

Existen otros estudios moleculares sobre *M. cephalus* realizados con marcadores nucleares y mitocondriales fuera de México, como es el caso de Crosetti *et al.*, (1994) que con base en ADN mitocondrial encontraron que poblaciones morfológicamente muy similares de *M. cephalus* del Mediterráneo, EUA, Hawaii, Galápagos, Mauritania, sur de África y Taiwán, están estructuradas genéticamente en 7 grupos de acuerdo con su distribución geográfica. Asimismo, Rossi *et al.*, (1998) basados en el análisis de aloenzimas en poblaciones de *M. cephalus* de Florida, el este y oeste de Italia, Egipto, Mauritania, el este y oeste de Australia, sur de África, Hawaii y Galápagos, encontraron que las poblaciones presentan una marcada estructuración poblacional principalmente en zonas del este y oeste de Italia y Australia, donde se presentan más de dos linajes bien diferenciados.

Livi *et al.*, (2011) con base en citocromo b, analizaron 14 sitios geográficos a escala global, las localidades muestreadas fueron en Hawaii, Estados Unidos, Islas Galápagos, Ecuador, Mauritania, Italia, Rusia, Sudáfrica, Australia, China y Japón, encontrando la diferenciación de 4 linajes principales 1) Este de Australia 2) Oeste del Océano Atlántico y Mar Mediterráneo 3) Hawaii, Oeste de Australia, Mauritania y Oeste

del Océano Índico y 4) Islas Galápagos, China y Japón. Shen *et al.*, (2011) empleando secuencias del gen mitocondrial COI evaluaron muestras de tres localidades: Las costas de Keelung, Kaohsiung y el estuario de Kaoping en el noreste del Pacífico, encontrando tres linajes presentes asociados a la ausencia de flujo genético por efecto de las corrientes oceánicas. Por otra parte, Sun *et al.*, (2012) estudiaron poblaciones en China y con base en el gen mitocondrial COI encontraron dos linajes, uno al este de China y en Bohai Sea y el otro al sur y en Yellow Sea, además, detectaron un reciente cuello de botella para esta última, asociado a que la especie ha tenido periodos con tamaño poblacional efectivo bajo. Jamandre *et al.*, (2009) con base en la región control mitocondrial encontraron la presencia de dos linajes diferenciados en China, uno al este y otro al sur, asociado al efecto de las corrientes sobre el flujo génico entre poblaciones. Durand *et al.*, (2013) analizaron la estructura genética e historia evolutiva de poblaciones del *M. cephalus* del Mar Mediterráneo, incluyendo 18 sitios en la zona adyacente del Atlántico nororiental y el Mar Negro utilizando un gen mitocondrial (citocromo b) y 7 loci nucleares, los resultados indicaron la presencia de un solo clado sobre toda el área geográfica.

#### 4. Justificación

Este es el primer trabajo con un enfoque filogeográfico con el que se pretenden generar conocimientos históricos acerca de la estructura y diversidad genética de *Mugil cephalus* en las costas del Pacífico y Golfo de México. Los resultados permitirán identificar la relación entre la información histórica generada con las migraciones durante la época reproductiva y con las corrientes oceánicas.

Además, los datos generados en este trabajo permitirán conocer más acerca de los patrones evolutivos y de la historia de vida de la lisa (*Mugil cephalus*), lo cual resulta trascendental ya que es una especie importante para el consumo humano en México y en muchos países, dado que constituyen una parte fundamental de la dieta de las poblaciones cercanas a los sistemas lagunares durante la época de reproducción (Ramos-Santiago *et al.*, 2010).

## **5. Pregunta de Investigación**

¿Cuáles son los patrones filogeográficos de *Mugil cephalus* en el Golfo de México y Pacífico Mexicano?

## **6. Hipótesis**

Entre las poblaciones de *Mugil cephalus* en los mares mexicanos, se espera encontrar alto flujo génico debido a la migración reproductiva sincrónica y transportación de larvas con influencia de corrientes oceánicas, provocando que dichas poblaciones tengan una baja o ausente estructura filogeográfica tanto en el Golfo de México como en el Pacífico Mexicano. Además, se espera encontrar la presencia de dos linajes diferenciados correspondientes al Golfo de México y al Pacífico, debido al aislamiento geográfico provocado por movimientos tectónicos antiguos y cambios climáticos.

## 7. Objetivo General

- Determinar los patrones filogeográficos de *Mugil cephalus* para detectar los procesos históricos responsables de su distribución en el Golfo de México y el Pacífico Mexicano, utilizando marcadores mitocondriales.

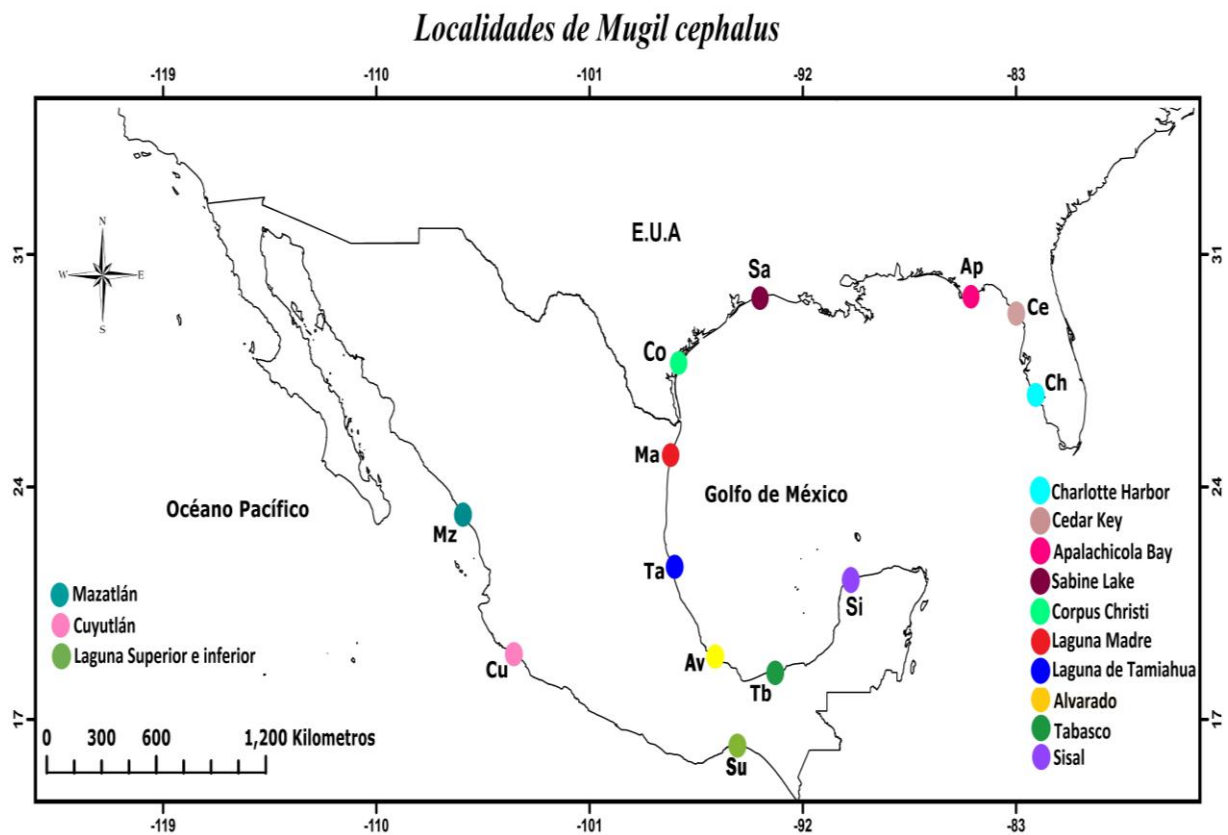
### 7.1 Objetivos Específicos

- Determinar la estructura genética de *M. cephalus* en el Golfo de México y en el Pacífico Mexicano.
- Determinar la estructura genética de *M. cephalus* entre localidades del Golfo de México *versus* Pacífico Mexicano.
- Evaluar la asociación entre distancias genéticas y geográficas para *M. cephalus*.
- Analizar la diversidad genética general y particular (entre las localidades).
- Determinar la demografía histórica para *M. cephalus*.

## 8. Metodología

### 8.1 Trabajo de campo. Colecta.

Se realizaron capturas comerciales entre los años 2009 y 2016 de 13 localidades (10 muestras por localidad), diez en el Golfo de México y tres en el Pacífico Mexicano (**Fig. 2; Tabla 2**). Los ejemplares fueron identificados mediante las claves taxonómicas de Harrison (1995). A cada ejemplar se le cortó un trozo de aleta y se conservó en etanol absoluto; posteriormente se realizaron dos recambios por alcohol al 70% para la conservación del tejido.



**Figura 2.** Mapa con localidades muestreadas en el Golfo de México y Pacífico Mexicano para *Mugil cephalus*.

**Tabla 2.** Localidades de colecta y clave, tamaño de muestra y año de colecta. El superíndice <sup>1</sup> indica que las localidades pertenecen al Golfo de México y <sup>2</sup> pertenecen al Pacífico Mexicano.

Localidad	Clave	Tamaño de muestra	Año de colecta	Coordenadas geográficas	
				Latitud	Longitud
Charlotte Harbor, Florida <sup>1</sup>	Ch	10	2012	26.792	-82.115
Cedar Key, Florida <sup>1</sup>	Ce	10	2012	29.159	-83.036
Apalachicola Bay, Florida <sup>1</sup>	Ap	10	2012	29.689	-84.976
Sabine Lake , Texas <sup>1</sup>	Sa	10	2012	29.889	-93.844
Corpus Christi, Texas <sup>1</sup>	Co	7	2015	27.763	-97.217
Laguna Madre, Tamaulipas <sup>1</sup>	Ma	10	2009, 2010	25.043	-96.639
Laguna de Tamiahua, Veracruz <sup>1</sup>	Ta	10	2009, 2010	21.624	-97.512
Laguna de Alvarado, Veracruz <sup>1</sup>	Av	10	2009, 2016	18.775	-95.752
Tabasco <sup>1</sup> (Mg y Pa)	Tb	10	2012	18.395	-93.142
Magallanes	Mg			18.297	-93.851



Paraíso	Pa			18.440	-93.203
Sisal, Yucatán <sup>1</sup>	Si	10	2014	21.166	-90.051
Mazatlán, Sinaloa <sup>2</sup>	Mz	10	2012	19.016	-104.256
Laguna de Cuyutlán, Colima <sup>2</sup>	Cu	10	2009	23.180	-106.421
Laguna Superior e Inferior, Oaxaca <sup>2</sup>	Su	10	2014	16.295	-94.698
Número de muestras		<b>127</b>			
totales					

## 8.2 Trabajo de Laboratorio

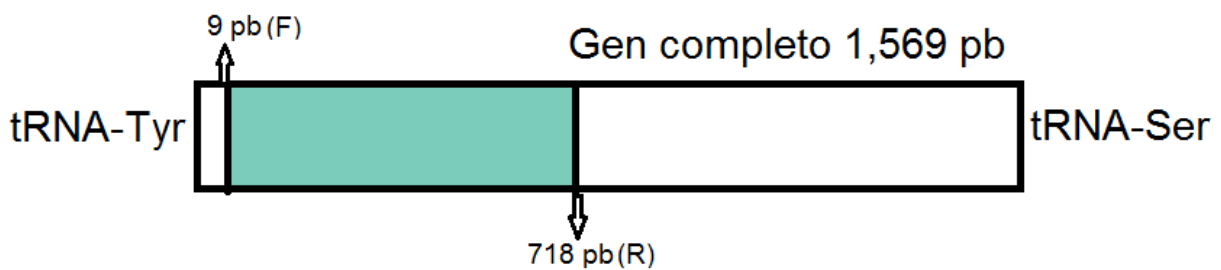
### 8.2.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó a partir de aleta empleando el protocolo de extracción con sal común (modificado de Lopera-Barrero *et al.*, 2008) (**Anexo I**).

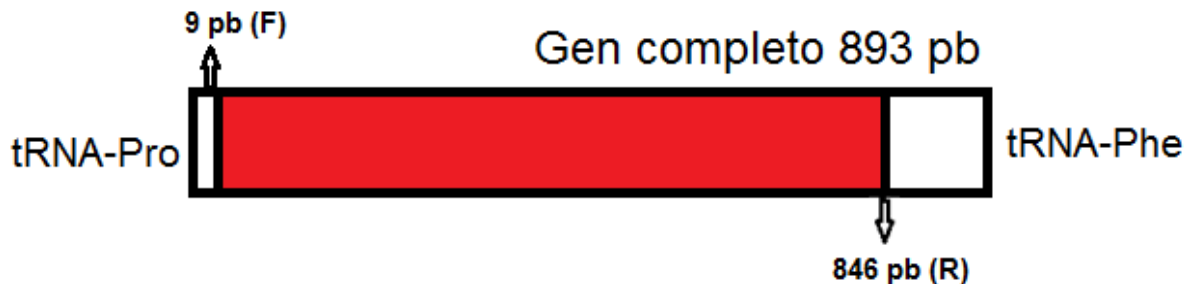
Se obtuvieron un total de 127 extracciones de ADN de *Mugil cephalus* a partir de 10 muestras por localidad, con excepción de Corpus Christi, Texas ( $n=7$ ). Se cuantificó la concentración de ADN de cada muestra con un espectrofotómetro NanoDrop 2000c y se realizaron diluciones de cada muestra para obtener una concentración de 50 ng/ $\mu$ l. La calidad del ADN fue verificada en geles de agarosa al 1%, los geles se corrieron durante 30 minutos y se visualizaron en un fotodocumentador (MiniLumi DNR).

### 8.2.2 Reacción en cadena de la polimerasa

La amplificación se realizó por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para el gen mitocondrial del Citocromo Oxidasa I (686 pares de bases -pb-) se utilizaron los oligos FishF1, FishF2, FishF3 FishFR1, FishR2 reportados en Ward *et al.*, (2005), (**Tabla 3; Fig. 3**) y para la Región Control (680 pb) se utilizaron los oligos McepPro y McePhe reportados en Garber (1999), (**Tabla 3; Fig. 4**).



**Figura 3.** Representación del fragmento amplificado de Citocromo Oxidasa I en color verde.



**Figura 4.** Representación del fragmento amplificado de Región Control en color rojo.

**Tabla 3.** Secuencias de oligos seleccionados para la amplificación de los genes COI y RC.

Oligos	Secuencia
FishF1	5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'
FishF2	5'-TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3'
FishF3	5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'
FishR1	5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATC-3'
FishR2	5' ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3'
McePro	5'- CCAAGGCCAGGATTTTTACGTT-3'
McePhe	5'-TCTTGACATCTTCAGCGTCGC-3'

La mezcla de reacción para Citocromo Oxidasa I fue de 25  $\mu$ L incluyendo 9.9  $\mu$ L de agua libre de nucleasa, 12.5  $\mu$ L de GoTaq Green Master Mix (incluye DNA *Taq* polimerasa, dNTPS, MgCl<sub>2</sub> y buffer de reacción), 0.8  $\mu$ L de cebador Forward 10 mM (5'-3') y 0.8  $\mu$ L de cebador Reverse 10 mM (3'-5') y 1  $\mu$ L de ADN (50 ng/mL). Las amplificaciones se realizaron con diferentes pares de cebadores y utilizando MgCl<sub>2</sub> y Solución Q para algunas muestras. Para la Región Control, la mezcla final fue de 25  $\mu$ L incluyendo 9.9  $\mu$ L de agua libre de nucleasa, 12.5  $\mu$ L de GoTaq Green Master Mix, 0.8  $\mu$ L de cebador Forward 10 mM (5'-3') y 0.8  $\mu$ L de cebador Reverse 10 mM (3'-5') y 1  $\mu$ L de ADN (50 ng/mL), en algunos casos se utilizaron aditivos, como Solución Q, Betaína, BSA y MgCl<sub>2</sub>.

Las condiciones de amplificación para COI fueron un ciclo inicial de desnaturalización a 95°C durante 2 minutos y 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, el alineamiento a 58.6°C durante 30 segundos y la elongación a 72°C durante 1 minuto. Para la RC las condiciones de amplificación fueron un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C por 3 minutos, y 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 45 segundos, el alineamiento fue entre 54.3°C y 59.4°C por 1 minuto, la variación de la temperatura se debió a la tasa mutacional del gen y finalmente la elongación a 72°C por 1 minuto.

No fue posible amplificar la región control para las muestras del Pacífico Mexicano, a pesar de que se realizaron pruebas de gradientes de temperatura, MgCl<sub>2</sub>, aditivos como solución Q y betaína, diferentes concentraciones de ADN y modificación de los ciclos de PCR.

### **8.2.3 Purificación**

Los productos de PCR se purificaron mediante columnas de Centri Sep con sephadex y posteriormente fueron verificados en geles de agarosa al 1%. Los geles se corrieron durante 30 minutos y se visualizaron en un fotodocumentador (MiniLumi DNR).

### **8.2.4 Secuenciación y alineamiento**

Las reacciones de secuenciación cíclica se realizaron con Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit V3.1 (Applied Biosystems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El producto se purificó en columnas Centrisep (Invitrogen) con sephadex. La secuenciación se realizó en un secuenciador ABI PRISM 3130 XL en sentido 3'-5' y 5'-3', obteniendo los electroferogramas correspondientes que

muestran el orden de las bases a partir de curvas de fluorescencia, una por cada base, y se visualizaron en el programa BioEdit v. 7.1.11 (Hall, 1997). Se llevó a cabo un análisis de autenticidad BlastN (Altschul *et al.*, 1990). Finalmente se efectuó la edición y alineamiento con el programa Bioedit v. 7.1.11 con una posterior revisión a ojo (Hall, 1997).

## **9. Análisis de datos**

### **9.1 Patrones filogeográficos**

Se estimaron la estructura y diversidad genética: inferencia filogenética, redes de haplotipos, AMOVA, prueba de Mantel, distancias genéticas y flujo genético, para inferir los patrones filogeográficos.

#### **9.1.1 Análisis filogenéticos intraespecíficos**

Se realizaron reconstrucciones de las relaciones filogenéticas intraespecíficas usando los métodos de Inferencia Bayesiana (IB), Neighbor Joining (NJ), Máxima Verosimilitud (ML) y Máxima Parsimonia (MP). El método bayesiano fue aplicado usando el programa MrBayes v.3.2.6 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001) y para NJ, ML y MP fueron utilizados los programas Mega v.7.0.26 (Kumar *et al.*, 2004.) PhyML v.3.0 (Guindon *et al.*, 2010) y Winclada v.1.00.08 (Nixon, 2002), respectivamente. El modelo evolutivo o de sustitución nucleotídica fue seleccionado en jModelTest v.2.1.10 (Posada, 2008) de acuerdo al Criterio de Información Bayesiana (BIC) fue HKY+G para ambos marcadores. Para la elección de los grupos externos se realizaron diferentes combinaciones realizando pruebas con los reportados en trabajos previos (Durand *et*

*al.*, 2012; Durand y Borsa, 2015; Durand *et al.*, 2016; Xia *et al.*, 2016). Finalmente se utilizaron individuos de diferente colecta de *Chelon labrosus* [números de acceso GenBank: JQ060589, JQ842588 (COI), JF911706.1, NC\_017883.1 (RC)] y de *Mugil curema* [números de acceso GenBank: JQ060589, JQ842588 (COI), JF911710.1, NC\_017889.1 (RC)]. Además, se incluyeron otras cuatro secuencias del Golfo de México: MspBUSA, MspBTEX, MspBFLO y MspBLMA [números de acceso GenBank: EU715451 (USA), KF930146 (Texas), JQ842582 (Florida) y HQ131885 (Laguna Madre)], de 3 localidades de Estados Unidos y una de México. Además, dos secuencias del Pacífico: MspGPA y MspGCH [números de acceso GenBank: HQ149715 (La Paz) y JQ060560 (Chiapas)] reportados en Durand y Borsa, (2015) y Durand *et al.*, (2016).

### **9.1.2 Redes haplotípicas**

Para identificar los haplotipos y sus relaciones se generaron redes con el método median-joining con el programa Network v. 4.2.0 (Bandelt *et al.*, 1999) y con el programa TCS (Clement *et al.*, 2000) comparando los resultados de ambos enfoques metodológicos, puesto que TCS estima las redes mediante parsimonia estadística y Network se basa en distancias medias.

### 9.1.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

Se realizó un AMOVA para determinar la variación genética entre y dentro de las poblaciones con el programa Arlequin v. 2.0 (Schneider *et al.*, 2000). Primero se analizaron todas las muestras como un solo grupo y posteriormente se agruparon las muestras del Golfo y las del Pacífico Mexicano por separado.

### 9.1.4 Flujo genético y Prueba de Mantel

Se estimó el flujo genético mediante los estimadores indirectos:  $F_{st}$  y  $Nm$  de acuerdo con Hudson *et al.*, (1992) con el programa DNAsp v. 3.14 (Rozas y Rozas, 1999) para calcular  $F_{st}$  se utilizó la fórmula:  $F_{st} \approx \frac{1}{1+2Nm}$ , donde  $N$  es el número de individuos en cada población y  $m$  es la fracción de migrantes de cada población en cada generación.

El estimador  $Nm$  fue obtenido con  $Nm = \frac{1}{2} \left( \frac{1}{F_{st}} - 1 \right)$ . También se realizó una Prueba de Mantel con el programa Mantel v. 2.0. (Liedloff, 1999), para determinar posible aislamiento por distancia entre Golfo de México y Pacífico Mexicano. El modelo de aislamiento por distancia examina la relación del flujo génico entre pares de poblaciones y se relaciona con el hecho de que la diferenciación genética se incrementa a mayor distancia. Este modelo permite, asimismo, explicar posibles formas de dispersión y, por lo tanto, aspectos históricos de las poblaciones naturales (Slatkin, 1994; 1995).

### 9.1.5 Distancias Genéticas

Además, se calcularon las distancias medias corregidas para obtener el grado de diferenciación entre y dentro de las localidades del Golfo de México y Pacífico

Mexicano con el programa Mega v. 3.0 (Kumar *et al.*, 2004) bajo diferentes modelos de sustitución nucleotídica K2P (COI) en donde la frecuencia de las bases es igual con distintas tasas de mutación y Tamura-Nei (RC) en donde se consideran distintas frecuencias de bases y distintas tasas de mutación.

#### **9.1.6 Diversidad genética**

Con el programa DNAsp v. 3.14 (Rozas y Rozas, 1999) se obtuvieron estimadores de genética de poblaciones descriptiva: diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y diversidad haplotípica ( $h$ ), analizando todas las muestras y posteriormente cada localidad.

### **9.2 Eventos históricos**

Se realizaron estimaciones de tiempos de divergencia tomando en cuenta los trabajos anteriores de Duran y Borsa, (2015) y Durand *et al.*, (2016) en donde obtuvieron dos linajes diferenciados, uno para el Golfo de México y el otro para el Pacífico. También se estimó la historia demográfica, ya que los procesos demográficos históricos como el crecimiento o expansión poblacional dejan signos observables sobre la variación genética y la estructura filogenética de las poblaciones (Rogers y Harpending, 1992; Tajima, 1989).

#### **9.2.1 Tiempos de divergencia**

Se estimó el tiempo de divergencia para el gen COI, considerando las muestras del Golfo de México como población 1 y las muestras del Pacífico Mexicano como población 2, utilizando el programa Isolation with Migration (IM) (Hey y Nielsen, 2004) basados en la tasa de mutación de 1.6% por sustitución/sitio/millones de años



reportada en Shen *et al.*, (2011), por lo que dicha tasa evolutiva fue multiplicada por la longitud del gen entre un millón de años para finalmente obtenerla en unidades de sustitución/gen/años.

El modelo evolutivo utilizado fue el de Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) (Hasegawa *et al.*, 1985). Este es un modelo general para múltiples sustituciones, con diferentes tasas de transiciones y transversiones así como frecuencias desiguales de los cuatro nucleótidos; es recomendado cuando se usan datos de secuencias de ADN mitocondrial. El parámetro escalar inherente fue 0.25 usado para el ADNmt.

Mediante una serie de pruebas se determinaron los parámetros y número de genealogías que se ajustaron a la distribución del parámetro  $t$ . Los valores para los parámetros de las tasas de migración ( $-m_1$  y  $m_2$ ) y theta ( $\theta$ ) fueron de 0.0001, para el tiempo de divergencia ( $-t$ ) 30, el burnin ( $-b$ ) de 500,000 pasos y la duración de la corrida fue de 6, 000,000 de generaciones ( $-l$ ).

### **9.2.2 Demografía histórica**

Se realizó un análisis de distribución de desigualdad de pares de bases (mismatch distribution) a todas las localidades incluidas en este estudio, analizando primero las localidades del Golfo de México y posteriormente, solo las del Pacífico Mexicano, con los programas Arlequin v. 2.0 (Schneider *et al.*, 2000) y DNAsp v. 3.14 (Rozas y Rozas, 1999). El análisis consiste en calcular la frecuencia de las distintas categorías de números de diferencias apareadas y compararla con la distribución esperada bajo un escenario de expansión demográfica mediante simulaciones coalescentes. Cuando

una población atraviesa un evento de expansión reciente, se espera que la distribución de pares de bases sea unimodal. Se calcularon los índices de neutralidad de  $D$  de Tajima (Tajima, 1989) y  $F_s$  de  $F_u$  (Fu, 1997). Estos muestran valores significativamente negativos cuando las poblaciones sufrieron una expansión poblacional. Si aceptamos que el marcador utilizado es selectivamente neutro, los valores negativos significativos de  $D$  y  $F_s$  son considerados evidencia de expansión poblacional.

## **10. Resultados**

Del total de muestras colectadas en las 13 localidades, se analizaron 127 para Citocromo Oxidasa I, 10 localidades del Golfo de México y 3 localidades del Pacífico Mexicanoy 97 para la Región Control correspondientes a 10 localidades del Golfo de México.

### **10.1 Patrones generales de variación**

**Citocromo Oxidasa I.** Se analizaron 635 pb de citocromo oxidasa I de 127 individuos de *Mugil cephalus*. La composición nucleotídica fue de T: 30.8%, C: 27.1% A: 24.4% y G: 17.7%. De las secuencias analizadas, 585 sitios fueron constantes y 50 variables; dentro de las últimas, 35 sitios resultaron parsimoniosamente informativos y 15 sitios fueron no informativos.

Se encontraron 29 haplotipos, de los cuales nueve fueron compartidos, H1, H2, H5, H11, H19, H25, H26, H28 y H29. El haplotipo con una mayor frecuencia haplotípica fue H1 con individuos representantes de las diez localidades del Golfo de México (**Tabla 4 y Anexo II**). El resto de los haplotipos (20) son únicos.

**Región control.** Se analizaron 680 pb de 97 individuos de *Mugil cephalus*. La composición nucleotídica fue de T: 29.4%, C:20.6 %, A:36.0% y G: 14.1%. De las secuencias analizadas 528 sitios fueron constantes y 146 variables; dentro de las últimas, 71 sitios resultaron parsimoniosamente informativos y 75 sitios fueron no informativos. Se encontraron 91 haplotipos, de los cuales dos fueron haplotipos compartidos, H1 y H30, presentes en 4 y 2 localidades del Golfo de México (**Tabla 4 y Anexo III**). El resto de los haplotipos (89) son únicos.

**Tabla 4.** Distribución de haplotipos de *Mugil cephalus* con base en los marcadores mitocondriales Citocromo Oxidasa I (COI) y Región Control (RC). Las localidades son Charlotte Harbor, FL=Ch; Cedar Kay, FL=Ce; Apalachicola Bay, FL=Ap; Sabine Lake, TX=Sa; Corpus Christi, TX=Co; Laguna Madre, TS=Ma; Laguna de Tamiahua, VZ=Ta; Laguna de Alvarado, VZ=Av; Tabasco, TC=Tb; Sisal, YN=Si; Mazatlán, SL=Mz; Cuyutlán, CM=Cu y Laguna superior e inferior, OC (Su).

Haplotipo	Golfo de México COI/RC										Pacífico Mexicano COI/RC			Total COI/RC
	Ch	Ce	Ap	Sa	Co	Ma	Ta	Av	Tb	Si	Mz	Cu	Su	
1	8/0	8/1	8/0		3/0	6/0			6/0	7/0				64/6
				5/1			6/2	7/2						
2	1/0							1/1	1/0					3/1
3	1/0							0/1						1/1
4		1/0						0/1						1/1
5		1/0			1/0	1/0		0/1	1/0					4/1

6		1/0			0/1					1/1
7		1/0			0/1					1/1
8			1/0		0/1					1/1
9		0/1	1/0							1/1
10		0/1	1/0							1/1
11		0/1	2/0		2/0			1/0		5/1
12		0/1		1/0						1/1
13		0/1		1/0						1/1
14		0/1		1/0						1/1
15		0/1			1/0					1/1
16		0/1			1/0					1/1
17		0/1			1/0					1/1
18		0/1				2/0				2/1
19		0/1			1/0			1/0		2/1
20		0/1				1/0				1/1
21		0/1				1/0				1/1
22		0/1					1/0			1/1
23		0/1					1/0			1/1
24		0/1						1/0		1/1
25		0/1					1/0	1/0		2/1
26		0/1					6/0	8/0	9/0	23/1
27		0/1					1/0			1/1
28		0/1						2/0		2/1
29	0/1							1/	1/	2/1
30	0/1					0/1				0/2
31	0/1									0/1
32	0/1									0/1
33	0/1									0/1

34	0/1			0/1
35	0/1			0/1
36	0/1			0/1
37	0/1			0/1
38	0/1			0/1
39			0/1	0/1
40			0/1	0/1
41			0/1	0/1
42			0/1	0/1
43			0/1	0/1
44			0/1	0/1
45			0/1	0/1
46			0/1	0/1
47			0/1	0/1
48			0/1	0/1
49			0/1	0/1
50			0/1	0/1
51			0/1	0/1
52			0/1	0/1
53			0/1	0/1
54			0/1	0/1
55			0/1	0/1
56		0/1		0/1
57		0/1		0/1
58		0/1		0/1
59		0/1		0/1
60		0/1		0/1
61		0/1		0/1

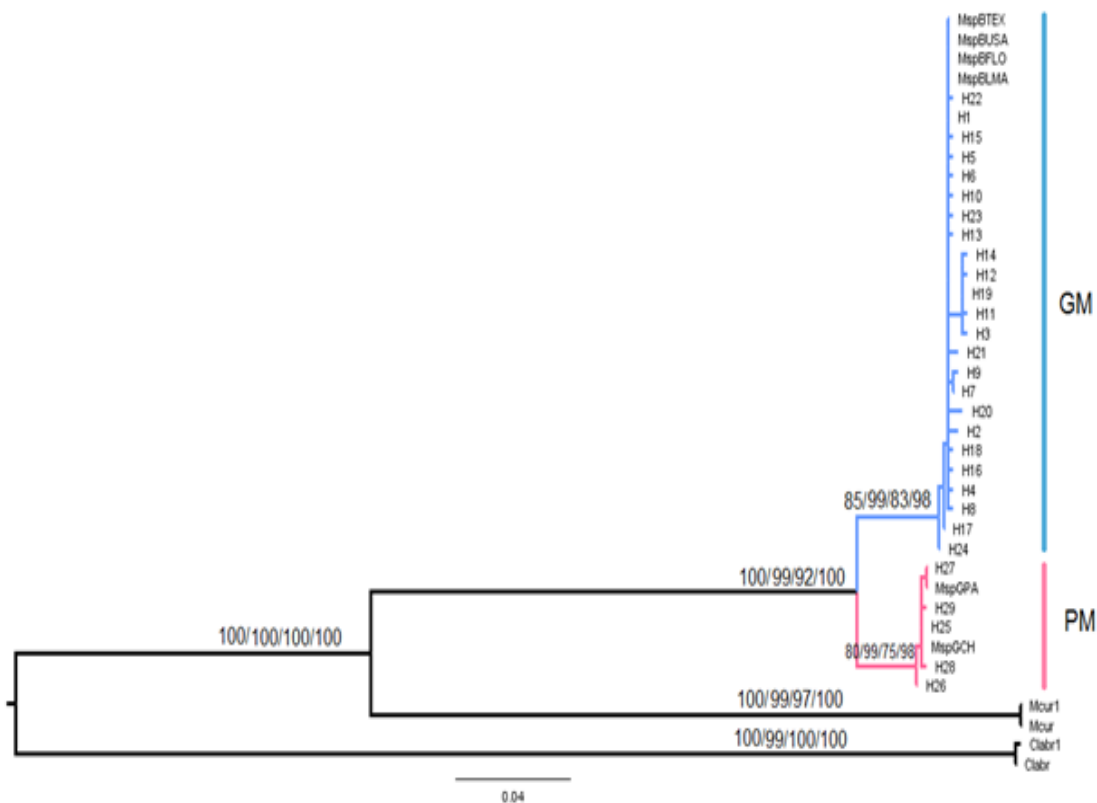
62	0/1		0/1
63	0/1		0/1
64	0/1		0/1
65		0/1	0/1
66		0/1	0/1
67		0/1	0/1
68		0/1	0/1
69		0/1	0/1
70		0/1	0/1
71		0/1	0/1
72		0/1	0/1
73		0/1	0/1
74		0/1	0/1
75		0/1	0/1
76		0/1	0/1
77		0/1	0/1
78		0/1	0/1
79		0/1	0/1
80		0/1	0/1
81		0/1	0/1
82		0/1	0/1
83		0/1	0/1
84		0/1	0/1
85		0/1	0/1
86		0/1	0/1
87		0/1	0/1
88		0/1	0/1
89		0/1	0/1

90	0/1	0/1
91	0/1	0/1
Total coi/rc		127/97

## 10.2. Patrones filogeográficos (Citocromo Oxidasa I y Región Control)

### 10.2.1. Relaciones filogenéticas

**Citocromo Oxidasa I.** Bajo el criterio de Información Bayesiana el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustó a la evolución de las secuencias fue el HKY+G (Hasegawa *et al.*, 1985) tanto para la Inferencia Bayesiana como el de Máxima verosimilitud. Las reconstrucciones filogenéticas, basadas en las secuencias del gen COI con los diferentes métodos, resultaron en una topología similar, sin embargo, se muestra la de Inferencia Bayesiana (**Fig. 5**). En la filogenia consenso se observan dos clados monofiléticos, uno correspondiente al Golfo de México (H1-H24) y otro al Pacífico Mexicano (H25-H29), con soportes mayores a 70% (Fig. 5).



**Figura 5.** Filogenia intraespecífica de *Mugil cephalus* basada en las secuencias de 635 pb del gen Citocromo Oxidasa I. Los valores sobre las ramas muestran el soporte estadístico en el siguiente orden, probabilidades posteriores de IB, y valores de bootstrap de NJ bajo el modelo de K2P, ML y MP con el método de TBR+TBR (Ci=84; Ri=93). La barra de escala = 0.04 sustituciones por sitio.

**Región control.** Para la región control solamente se contaron con secuencias del Golfo de México. La topología resultante con los diferentes métodos de reconstrucción filogenética resultaron en un grupo monofilético. Internamente no se observó una estructuración por región geográfica. El soporte de las ramas fue alto (**Fig. 6**).





**Figura 6.** Filogenia intraespecífica de *Mugil cephalus* basada en las secuencias de 680 pb de la Región Control. Los valores sobre las ramas muestran el soporte estadístico en el siguiente orden, probabilidades posteriores de IB, y valores de bootstrap de NJ bajo el modelo de Tamura-Nei, ML y MP con el método de TBR+TBR (Ci=80; Ri=89). La barra de escala = 0.03 sustituciones por sitio.

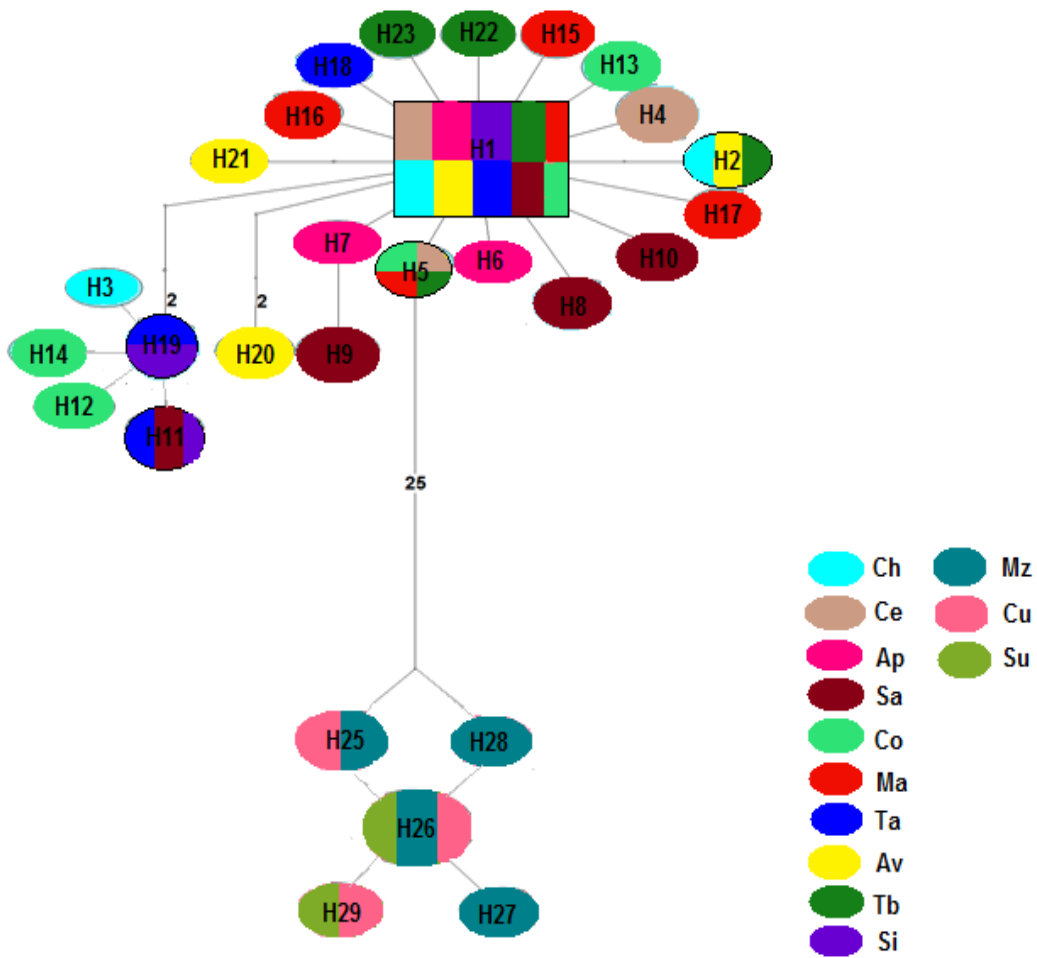
### 10.2.2 Redes haplotípicas

**Citocromo Oxidasa I.** La red de haplotipos de *Mugil cephalus* con base en el gen COI ( $n=117$ , 635 pb) también resultó en dos grupos, Golfo de México y Pacífico Mexicano, separados por 25 pasos mutacionales (**Figura 7 y 8**). Se identificaron 29 haplotipos (**Anexo II**) de los cuales 20 fueron únicos y nueve compartidos. El Haplotipo H1 es el

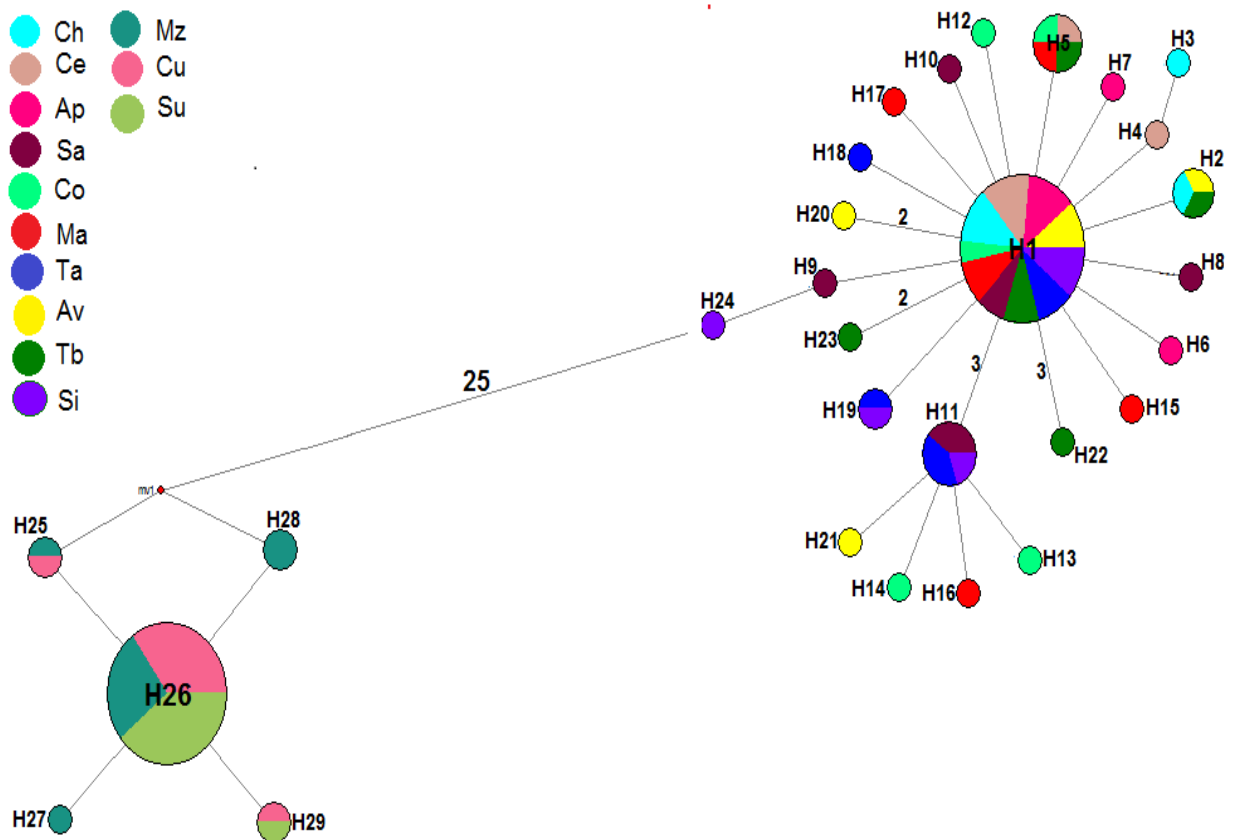
más abundante y se distribuye en 57 individuos de todas las localidades correspondientes al Golfo de México considerándose el haplotipo más ancestral; el segundo haplotipo compartido más abundante corresponde al haplotipo H24 con 23 individuos de las localidades de Mazatlán (Sinaloa), Cuyutlán (Colima) y Laguna superior e inferior (Oaxaca), correspondientes al Pacífico Mexicano.

Dentro del haplogrupo del Golfo de México se observan otros 4 haplotipos compartidos (H2, H5, H11 y H19), además, las localidades de Corpus Christi (Texas), Laguna Madre (Tamaulipas) y Sabine Lake (Texas) presentan el máximo número de haplotipos únicos.

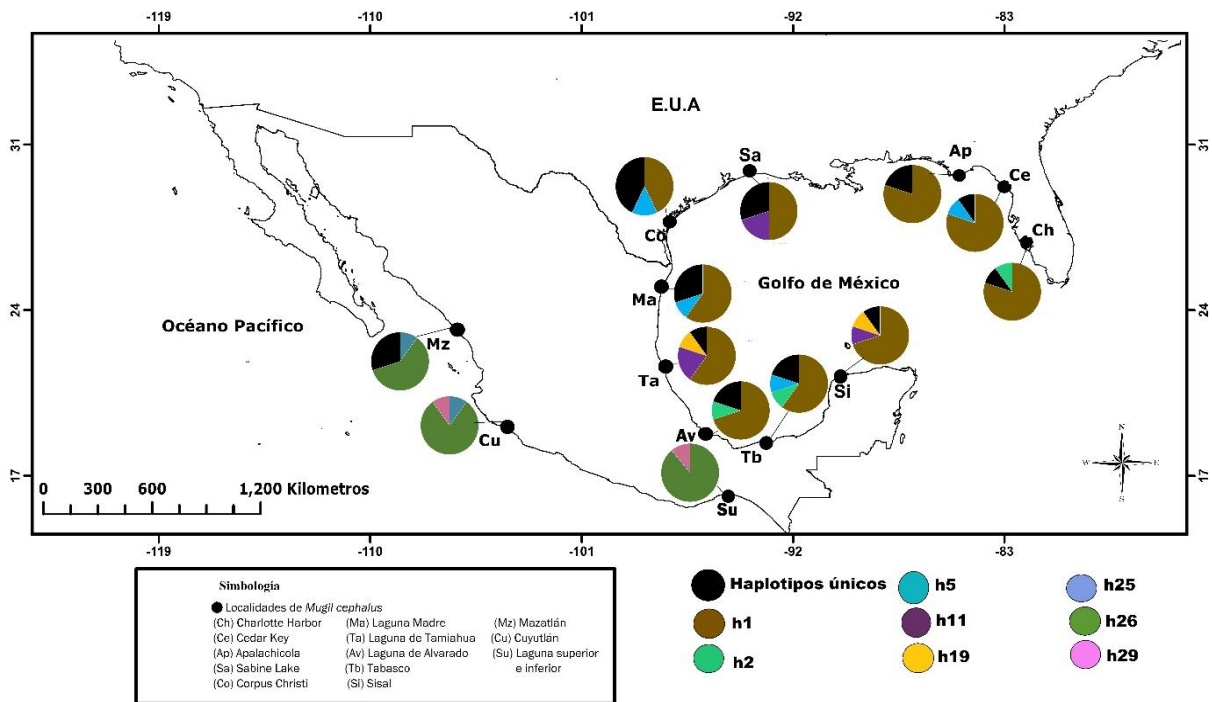
En el caso del haplogrupo del Pacífico Mexicano se observan otros 2 haplotipos compartidos (H25 y H29), los dos haplotipos restantes corresponden a Mazatlán (Sinaloa).



**Figura 7.** Red de haplotipos obtenida con el programa TCS a partir de secuencias obtenidas del gen Citocromo Oxidasa I correspondientes a las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano. El rectángulo indica el haplotipo ancestral y el tamaño de los círculos corresponde a la frecuencia haplotípica; los números en las líneas corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno.

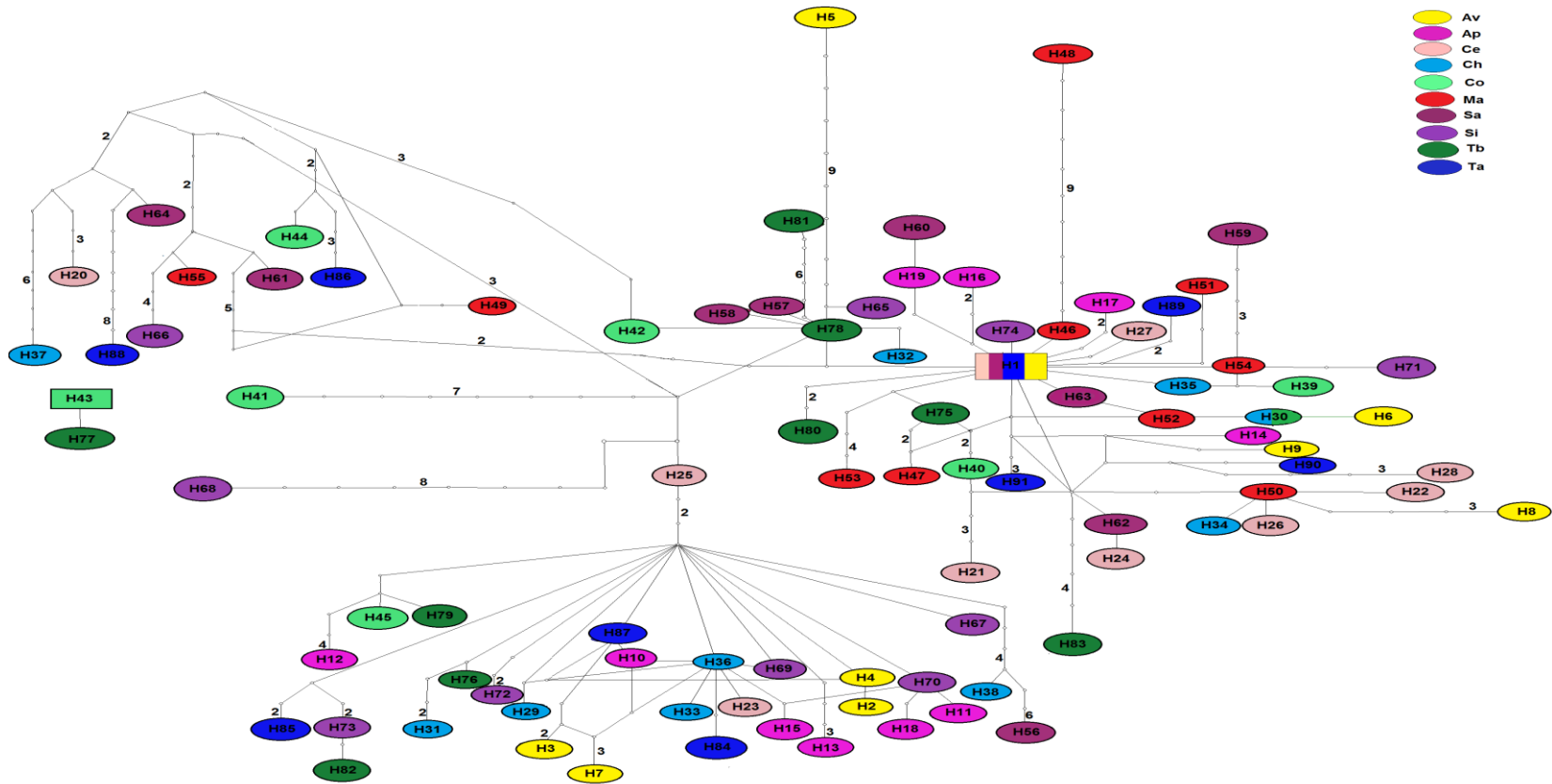


**Figura 8.** Red de haplotipos obtenida con el programa Network a partir de secuencias obtenidas del gen Citocromo Oxidasa I correspondientes a las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano. El tamaño de los círculos corresponde a la frecuencia haplotípica, los números corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno y los rombos rojos son haplotipos hipotéticos.

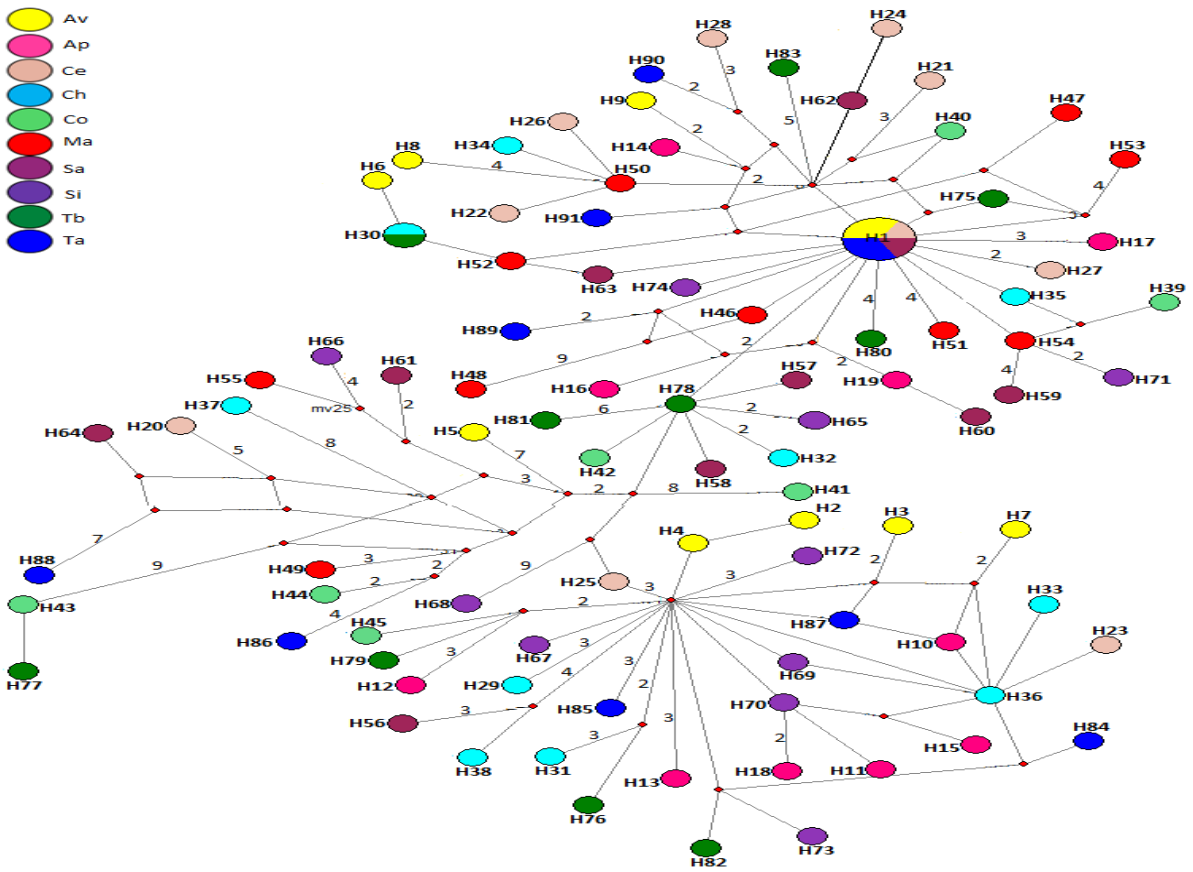


**Figura 9.** Mapa de distribución de haplotipos para *M. cephalus* con base en COI. Haplotipos únicos (negro), haplotipos compartidos: h1 (dorado), h2 (menta), h5 (azul), h11 (morado), h19 (amarillo), h25 (azul), h26 (verde) y h29 (rosa).

**Región control.** En las redes de haplotipos de *Mugil cephalus* con individuos del Golfo de México, con base en la Región Control ( $n=97$ , 680 pb), se observa al conjunto de haplotipos interconectados sin una estructuración genética-geográfica (**Figuras 10 y 11**). Se identificaron 91 haplotipos (**Anexo III**) de los cuales 89 fueron únicos y dos compartidos. El Haplotipo H1 es el más abundante por lo que se considera como el más ancestral y se presentó en seis individuos de las localidades de Laguna de Alvarado y Laguna de Tamiahua en Veracruz, Cedar Key en Florida y Sabine Lake en Texas; el segundo haplotipo compartido corresponde al haplotipo H30 con dos individuos de las localidades Charlotte Harbor, Florida y Magallanes, Tabasco.



**Figura 10.** Red de haplotipos obtenida con el programa TCS a partir de las secuencias de la Región Control de mitocondria correspondiente a las localidades del Golfo de México. Cada ovalo representa un haplotipo diferente. Los colores son asignados de acuerdo a la localidad y los números corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno.



**Figura 11.** Red de haplotipos obtenida con el programa Network a partir de las secuencias de la Región Control de la mitocondria correspondientes a las localidades del Golfo de México. El tamaño de los círculos corresponde a la frecuencia haplotípica, los colores son asignados de acuerdo a la localidad y los números corresponden a los pasos mutacionales cuando son mayores a uno y los rombos rojos son haplotipos hipotéticos.

### 10.2.3 Análisis de Varianza Molecular

**Citocromo Oxidasa I.** Los resultados del AMOVA indicaron un mayor porcentaje de variación entre las poblaciones que dentro de las poblaciones ( $F_{ST} = 0.91403$ ;  $P = <0.001$ ; Tabla 5) indicando estructuración genética entre el Golfo de México y Pacífico Mexicano. Dentro del Golfo de México el 100% de la variación está dentro de las poblaciones. En el caso del grupo del Pacífico Mexicano el mayor porcentaje de variación se encuentra dentro de las poblaciones explicado por un 99.67%.

**Tabla 5.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano de *Mugil cephalus* con base en Citocromo Oxidasa I.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	655.483	5.54114	91.40
Dentro de poblaciones	59.414	0.52118	8.60
Total	714.898	6.06231	

**Tabla 6.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Golfo de México de *Mugil cephalus* con base en Citocromo Oxidasa I.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	5.469	-0.00053	-0.08624
Dentro de poblaciones	53.314	0.61281	100.08624
Total	58.784	0.61228	

$F_{ST} : -0.00086$   $P = 0.49267$



**Tabla 7.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Pacífico Mexicano de *Mugil cephalus* con base en Citocromo Oxidasa I.

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Componentes de varianza</b>	<b>Porcentaje de variación</b>
Entre poblaciones	0.467	0.00074	0.33
Dentro de poblaciones	6.100	0.22593	99.67
Total	6.567	0.22667	

$F_{ST} : 0.00327 \quad P = 0.67155$

**Región control.** Los resultados del AMOVA para el Golfo de México mostraron una variación enorme (97.5%) dentro de las poblaciones ( $F_{ST} = 0.02478$ ;  $P = 0.00098$ ; **Tabla 8**) indicando nula estructuración genética.

**Tabla 8.** Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de las localidades del Golfo de México de *Mugil cephalus* con base en región control.

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Componentes de varianza</b>	<b>Porcentaje de variación</b>
Entre poblaciones	57.687	0.13069	2.47810
Dentro de poblaciones	447.457	5.14319	97.52190
Total	505.144	5.27388	

#### 10.2.4 Flujo genético y prueba de Mantel

**Citocromo Oxidasa I.** El flujo génico indicó que el número de migrantes por generación fue de 0.05 entre el Golfo y Pacífico Mexicano. Dentro del Golfo de México el número de migrantes por generación fue de 89.25 y dentro del Pacífico Mexicano fue de 76.25 migrantes por generación. Los resultados de la Prueba de Mantel confirman esta separación, indicando que existe aislamiento por distancia entre el Golfo de México y Pacífico Mexicano ( $g = 2.104$ ,  $z = 3808.6148$ ,  $r = 0.2957$ ,  $P > 0.05$  con 1000 permutaciones).

**Región control.** Entre las localidades del Golfo de México el promedio de número de migrantes por generación fue de 11.94. Por otro lado, los resultados de la prueba de Mantel indicaron que no hay aislamiento por distancia ( $g = 0.0244$ ,  $z = 1301.8374$ ,  $r = 0.0029$ ,  $P > 0.05$  con 1000 permutaciones) dentro del Golfo de México.

#### 10.2.5 Distancias genéticas

**Citocromo Oxidasa I.** Las distancias genéticas fueron obtenidas con base en el modelo de K-2P. Este análisis reveló una distancia genética de 4.8% entre el Golfo de México y el Pacífico Mexicano. El intervalo de porcentajes de distancias genéticas entre localidades del Golfo de México fue de 0.1 a 0.3% y dentro de las localidades fue de 0.1-0.4%, el mayor porcentaje de distancia genética dentro de las localidades se encontró en Corpus Christi. El valor máximo de distancia genética entre y dentro de localidades del Pacífico Mexicano fue de 0.1% (**Tablas 9 y 10**).

**Tabla 9.** Matriz de distancias genéticas entre localidades (Golfo de México y Pacífico Mexicano) con base en COI expresadas en porcentajes

	Ch	Ce	Ap	Sa	Co	Ma	Ta	Av	Tb	Mz	Si	Cu	Su
<b>Ch</b>													
<b>Ce</b>	0.1												
<b>Ap</b>	0.1	0.1											
<b>Sa</b>	0.2	0.2	0.2										
<b>Co</b>	0.3	0.3	0.3	0.3									
<b>Ma</b>	0.2	0.1	0.1	0.2	0.3								
<b>Ta</b>	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2							
<b>Av</b>	0.2	0.1	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2						
<b>Tb</b>	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2					
<b>Si</b>	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2				
<b>Mz</b>	4.7	4.7	4.7	4.8	4.7	4.8	4.8	4.8	4.8	4.7			
<b>Cu</b>	4.8	4.8	4.7	4.8	4.8	4.8	4.8	4.9	4.9	0.1	0.1		
<b>Su</b>	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.9	4.9	4.9	0.1	0.1	0.0	

**Tabla 10.** Tabla de distancias genéticas en porcentajes dentro de las localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano con base en COI

Loc.	Distancia genética
Ch	0.1
Ce	0.1
Ap	0.1
Sa	0.3
Co	0.4
Ma	0.2
Ta	0.2
Av	0.2
Tb	0.2
Si	0.2
Mz	0.1
Cu	0.1
Su	0.0

**Región control.** Para el Golfo de México, las distancias genéticas obtenidas con base en el modelo de Tamura-Nei entre localidades fueron de 1.2-1.7%, los valores más grandes de distancia genética se encontraron en los individuos de Corpus Christi con respecto a los de Charlotte Harbor y Tabasco. Dentro de localidades el intervalo de fue 1.1-1.8%, el valor más grande nuevamente fue observado en Corpus Christi. En general los valores muestran un bajo nivel diferenciación genética (**Tablas 11 y 12**).

**Tabla 11.** Matriz de distancias genéticas (porcentajes) entre localidades del Golfo de México con base en la Región Control.

	Ch	Ce	Ap	Sa	Co	Ma	Ta	Av	Tb	Si
Ch										
Ce	1.4									
Ap	1.3	1.3								
Sa	1.4	1.2	1.3							
Co	1.7	1.6	1.6	1.5						
Ma	1.6	1.3	1.5	1.2	1.6					
Ta	1.4	1.4	1.3	1.3	1.6	1.5				
Av	1.3	1.3	1.2	1.2	1.6	1.4	1.3			
Tb	1.5	1.5	1.4	1.4	1.7	1.5	1.5	1.4		
Si	1.3	1.4	1.2	1.3	1.6	1.5	1.4	1.2	1.5	

**Tabla 12.** Tabla de distancias genéticas (porcentajes) dentro de las localidades del Golfo de México con base en la Región Control.

Loc.	Distancia genética
Ch	1.5
Ce	1.3
Ap	1.1
Sa	1.2
Co	1.8
Ma	1.3

Ta	1.5
Av	1.2
Tb	1.7
Si	1.3

### 10.2.5 Índices de diversidad molecular

**Citocromo Oxidasa I.** Para el Golfo de México el valor de diversidad haplotípica fue de 0.56937 y el de diversidad nucleotídica fue de 0.00191. Por otro lado, en el Pacífico Mexicano los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica fueron de 0.41149 y 0.00071, respectivamente.

A nivel poblacional, la diversidad haplotípica más alta (0.85714) se encontró en la localidad de Corpus Christi, Texas, mientras que la más baja (0.2) se encontró en las lagunas superior e inferior en Oaxaca. La diversidad nucleotídica más alta también fue encontrada en Corpus Christi, Texas (0.00405) y la más baja (0.00031) en la Laguna Superior e inferior, Oaxaca (**Tabla 13**).

**Región control.** La diversidad haplotípica general para el Golfo de México fue de 0.99399 mientras que la diversidad nucleotídica de 0.01374. En general las poblaciones del Golfo de México mostraron altos niveles de diversidad genética (**Tabla 13**).

**Tabla 13.** Índices de diversidad genética para las poblaciones del Golfo de México y Pacífico Mexicano de *Mugil cephalus* con base en el gen Citocromo Oxidasa I (COI) y la Región Control (RC). Se indica el tamaño de muestra ( $n$ ), el número de haplotipos ( $k$ ), el número de sitios polimórficos ( $s$ ), la diversidad haplotípica ( $h$ ) y la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) de las secuencias analizadas.

<b>Localidad</b>	<b><math>n_{COI}/n_{RC}</math></b>	<b><math>k_{COI}/k_{RC}</math></b>	<b><math>s_{COI}/s_{RC}</math></b>	<b><math>h_{COI}/h_{RC}</math></b>	<b><math>\pi_{COI}/\pi_{RC}</math></b>
Charlotte Harbor	10/10	3/10	3/35	0.37778/1.00000	0.00094/0.01437
Cedar Key	10/10	3/10	2/32	0.37778/1.00000	0.00063/0.01242
Apalachicola Bay	10/10	3/10	2/25	0.37778/1.00000	0.00063/0.01108
Sabine Lake	10/10	5/10	6/29	0.75556/1.00000	0.00262/0.01161
Corpus Christi	7/7	5/7	7/34	0.85714/1.00000	0.00405/0.01791
Laguna Madre	10/10	5/10	7/36	0.66667/1.00000	0.00220/0.01292
Laguna de Tamiahua	10/10	4/9	5/36	0.64444/0.97778	0.00231/0.014947
Laguna de Alvarado	10/10	4/9	7/27	0.53333/0.97778	0.00220/0.01225
Tabasco	10/10	5/10	7/42	0.66667/1.00000	0.00220/0.01625
Sisal	10/10	4/10	6/32	0.53333/1.00000	0.00189/0.01245
Mazatlán	10/10	4/0	3/0	0.64444/0	0.00119/0
Cuyutlán	10/10	3/0	2/0	0.37778/0	0.00063/0
Laguna superior e inferior	10/10	2/0	1/0	0.20000/0	0.00031/0

### 10.3 Eventos históricos

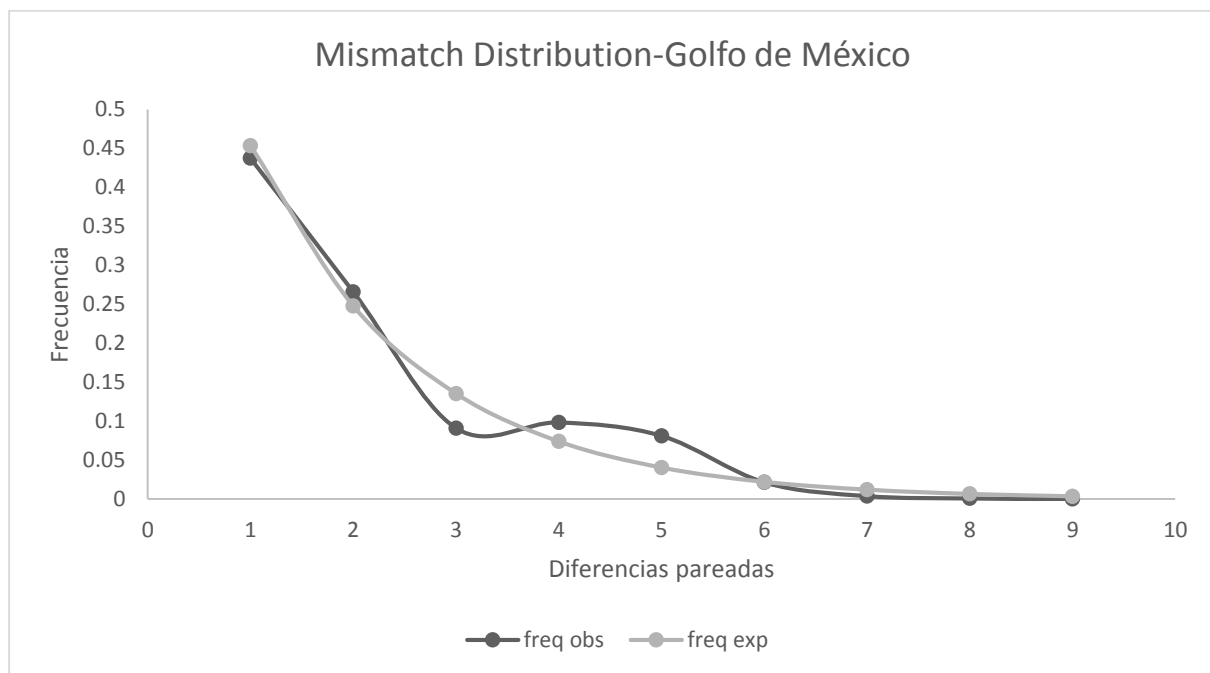
#### 10.3.1. Tiempos de divergencia

**Citocromo Oxidasa I.** El tiempo de divergencia estimado entre el Golfo de México y el Pacífico Mexicano fue de 1.5 millones de años, correspondiente con el periodo de glaciaciones durante el Pleistoceno.

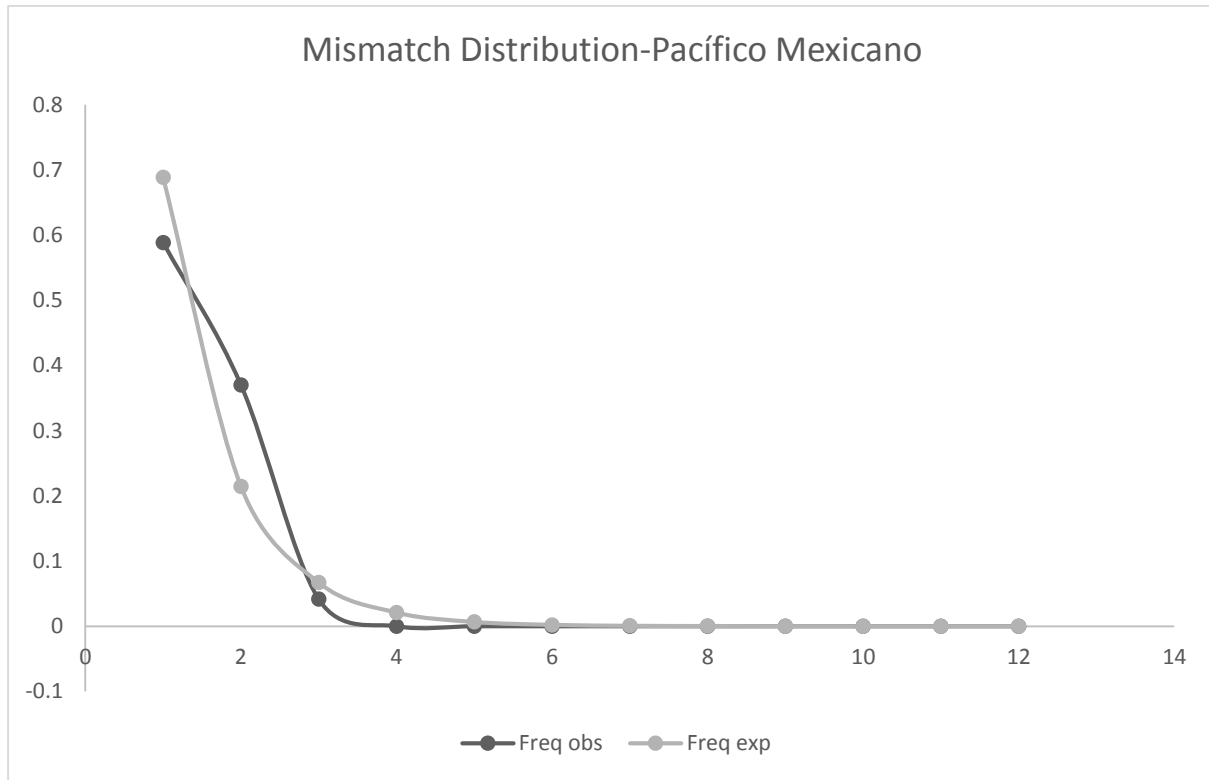
Para la región control no se contó con secuencias del Pacífico Mexicano, por lo que no fue posible calcular el tiempo de divergencia.

### 9.3.2. Demografía histórica

**Citocromo oxidasa I.** Los análisis muestran una distribución de pares de bases unimodal tanto en el Golfo de México como en el Pacífico Mexicano, indicando una expansión poblacional reciente, soportado por los valores negativos de los índices de neutralidad ( $D$  de Tajima = -2.28893,  $F_s$  de  $F_u$  = -25.139;  $P < 0.01$ ), indicando una fuerte señal de expansión poblacional en cada haplogrupo (**Figuras 12 y 13**).



**Figura 12.** Distribución de las diferencias pareadas de las secuencias de *M. cephalus* del Golfo de México con base en el gen COI. La línea más oscura indica la distribución de los datos y la línea de color claro indica la distribución esperada bajo el modelo de expansión demográfica.



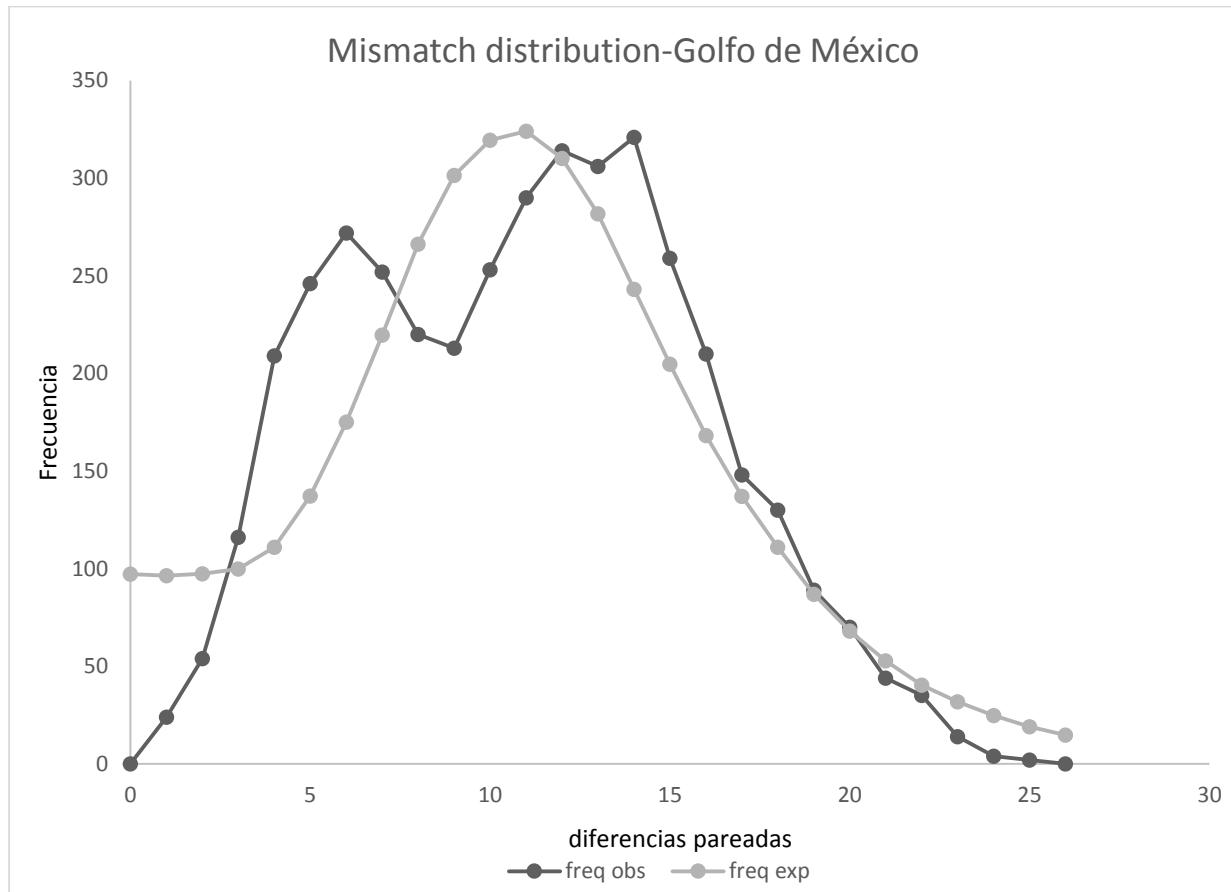
**Figura 13.** Distribución de las diferencias pareadas de las secuencias de *M. cephalus* en el Pacífico Mexicano en el gen COI. La línea más oscura indica la distribución de los datos y la línea de color claro indica la distribución esperada bajo el modelo de expansión demográfica.



**Tabla 14.** Análisis de distribución de las diferencias por pares de secuencias o mismatch con base en el gen COI ( $T$ : tiempo desde la expansión expresado en unidades de tiempo mutacional,  $\theta_0$ : teta inicial,  $\theta_1$ : teta final, SSD: suma de cuadrados de las desviaciones),

Haplogrupo	Localidad	$T$	$\theta_0$	$\theta_1$	SSD
<b>Golfo de México</b>	Ch	2.8	0.000	0.63755	0.01116
	Ce	0.5	0.000	99999.0	0.0579
	Ap	0.5	0.000	99999.0	0.00579
	Sa	3.2	0.00352	3.04912	0.03519
	Co	5.0	0.00527	5.66680	0.07342
	Ma	0.9	0.000	99999.0	0.03718
	Ta	4.0	0.000	2.01885	0.04524
	Av	0.0	0.000	3415.4	0.35852
	Tb	2.5	0.000	2.20977	0.00502
	Si	0.0	0.000	3415.4	0.35852
<b>Pacífico</b>	Mz	1.0	0.000	99999.0	0.03249
	Cu	0.5	0.000	99999.0	0.00579
	Su	2.9	0.900	3.600	0.33101

**Región control.** Para el Golfo de México, el análisis muestra una distribución de pares de bases unimodal indicando expansión poblacional, lo cual es soportado por los valores negativos de los índices de neutralidad ( $D$  de Tajima = -2.29142,  $F_s$  de Fu = -108.451;  $P < 0.01$ ; **Figura 14**)



**Figura 14.** Distribución de las diferencias pareadas de las secuencias de *M. cephalus* del Golfo de México con base en la región control. La línea más oscura indica la distribución de los datos y la línea de color claro indica la distribución esperada bajo el modelo de expansión demográfica.

**Tabla 15.** Análisis de distribución de las diferencias por pares de secuencias o mismatch con base en el gen RC ( $\tau$ : tiempo desde la expansión expresado en unidades de tiempo mutacional,  $\theta_0$ : teta inicial,  $\theta_1$ : teta final, SSD: suma de cuadrados de las desviaciones),

Haplogrupo	Localidad	$\tau$	$\theta_0$	$\theta_1$	SSD
<b>Golfo de México</b>	Ch	5.8	7.28594	708.7500	0.00874
	Ce	5.0	0.00000	99999.0	0.06597
	Ap	10.1	0.65391	47.3437	0.02726
	Sa	3.9	7.37930	250.000	0.01146
	Co	15.0	0.00000	79.90723	0.07948
	Ma	3.9	7.47930	99999.0	0.01183
	Ta	14.0	1.65059	30.64331	0.01638
	Av	10.5	2.6769	33.98438	0.01803
	Tb	5.1	8.55684	99999.0	0.02160
	Si	11.2	2.10918	24.42383	0.02405

## **11. Discusión**

Este es el primer trabajo con un enfoque filogeográfico en una especie de la familia Mugilidae para México, particularmente para la lisa cabezona cuya historia evolutiva, está caracterizada por eventos vicariantes (Formación del Istmo de Panamá y glaciaciones durante el Pleistoceno temprano) seguidos de expansiones poblacionales.

### **Estructuración genética y patrones filogeográficos generales**

En el presente trabajo, los análisis de inferencia filogenética, relaciones haplotípicas, Análisis de Varianza Molecular y la Prueba de Mantel, indican que los océanos mexicanos están compuestos por dos haplogrupos distintos para *Mugil cephalus*, el Golfo de México y el Pacífico Mexicano, separados por una distancia genética de 4.8% con el gen COI. Esta estructuración entre ambos haplogrupos coincide con la categorización filogeográfica tipo I propuesta por Avise (2000), que consiste en árboles genéticos con linajes alopátricos, con haplogrupos restringidos a un área geográfica determinada, separados por distancias genéticas relativamente moderadas o grandes. Estos dos haplogrupos se caracterizan por presentar una monofilia recíproca (ausencia de haplotipos compartidos), ausencia de flujo genético histórico (0.05 migrantes por generación), y de acuerdo con los análisis del Isolation with Migration, una divergencia hace 1.5 ma, correspondiente al Pleistoceno inferior.

La formación del Istmo de Panamá, hace 2.5 - 1,8 m. a. (Cronin y Dowsett, 1996; Haug y Tiedemann, 1998; O'Dea *et al.*, 2007; Beu, 2010), aunado a modificaciones climáticas y oceanográficas (Glaciaciones Pleistocénicas y movimientos eustáticos), posiblemente

fueron de los eventos más significativos que promovieron la divergencia de los haplogrupos presentados en *M. cephalus* en costas mexicanas. La emergencia del Istmo de Panamá condujo a una reorganización de la circulación oceánica, afectando también el clima global y cambiando significativamente las condiciones físico-químicas en ambos lados del Istmo, iniciando trayectorias evolutivas independientes en ambas cuencas oceánicas (Haug *et al.*, 2001; Schmidt, 2007). En un análisis detallado Leigh *et al.*, (2014) mencionan que el Istmo se cerró por primera vez durante el Plioceno superior, alrededor de 2.7 ma., como consecuencia de la caída del nivel del mar causada por el crecimiento de los glaciares del norte. De acuerdo con la información anterior, se han reportado especies en las que su distribución cambió debido a la formación del Istmo de Panamá, nombrándolas incluso como *geminate species* (especies gemelas) debido a la influencia de dicho evento geológico en la divergencia de linajes entre el Atlántico y el Pacífico. De manera similar con nuestros resultados, Galván-Quesada *et al.*, (2016) en especies del género *Dormitator* infirieron los eventos cladogenéticos que impulsaron la diversificación del género y los relacionaron con la historia biogeográfica de América Central, obteniendo dos linajes divergentes: Atlántico y Pacífico, en los que se incluyen el Golfo de México y Pacífico Mexicano, la separación de linajes fue asociado con el Istmo panameño además de los cambios climáticos y oceanográficos posteriores. En otro estudio con un enfoque filogeográfico sobre *Agonostomus monticola*, perteneciente a la Familia Mugilidae, los resultados fueron diferentes, ya que se obtuvieron cuatro linajes distintos dentro del intervalo geográfico conocido de la especie que corresponde a las cuencas oceánicas (Caribe, Golfo de México, Pacífico-A, Pacífico-B), no obstante el tiempo de divergencia

fue congruente con la edad de inicio del surgimiento del Arco de Panamá hace 20.7 m.a. durante el Mioceno temprano,(McMahan *et al.*, 2013).

### **Diversidad genética e Historia demográfica**

El análisis de los genes mitocondriales revelaron niveles moderados a altos de diversidad genética en las localidades analizadas, no obstante resultaron mayores en la región control posiblemente debido a la alta tasa mutacional del marcador. La alta diversidad genética presentada dentro de los haplogrupos del Golfo de México y del Pacífico Mexicano son un reflejo de la historia evolutiva y de la demografía de las poblaciones, lo que indica que no hay estructura dentro de cada haplogrupo debido a un alto contacto entre las localidades, y por ende alguna probabilidad de endogamia (Rubio, 2016). Los patrones de diversidad genética alta han sido reportados en otros peces (e.g. Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003; Domínguez *et al.*, 2010) así como en *M. cephalus* en otras áreas geográficas (e.g. Shen *et al.*, 2011, **Tabla 16**). En ese sentido, se puede inferir que la especie tiene una alta capacidad de resiliencia lo que probablemente facilitó la expansión de su intervalo de distribución en cuencas oceánicas mexicanas.

**Tabla 16.** Diversidades genéticas de especies de peces que habitan los océanos Atlántico y Pacífico; diversidad haplotípica (h), diversidad nucleotídica ( $\pi$ ).

Especie	Marcador	Área geográfica	h	$\pi$	Autor
<i>Pomatomus saltatrix</i>	Endonucleasas de restricción	Atlántico	0.70	0.0123	Graves <i>et al.</i> , 1992
<i>Ophioblennius atlanticus</i>	RFLPs	Atlántico	1.00	.0109	Shulman y Bermingham, 1995
<i>Lutjanus peru</i>	Región control	Pacífico	0.966	0.0323	Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003
<i>Scomberomorus sierra</i>	Región control	Pacífico	1.00	0.0244	Domínguez <i>et al.</i> , 2010
<i>Mugil cephalus</i>	Citocromo Oxidasa I	Pacífico	1.00	0.0364	Shen <i>et al.</i> , 2011

Tanto las redes de haplotipos tipo estrella como las distribuciones unimodales de las diferencias por pares (mismatch distribution) encontradas en este estudio, apoyan la hipótesis de un crecimiento rápido poblacional a partir de haplotipos ancestrales, que en este caso son los haplotipos H1 (Golfo de México) y H26 (Pacífico Mexicano). Los valores negativos y significativos de las pruebas de Tajima y  $F_s$  de  $F_u$  ( $D$  de Tajima= -2.28893,  $F_s$  de  $F_u$ = -25.139;  $P < 0.01$ , COI;  $D$  de Tajima= -2.29142,  $F_s$  de  $F_u$ = -108.451;  $P < 0.01$ ,

RC) también apoyan la presencia de eventos de expansión histórica poblacional. Después de la divergencia entre los haplogrupos del Golfo de México y Pacífico Mexicano, el consecuente cambio en las características oceanográficas y la adaptación de la lisa rayada a diferentes intervalos de temperatura y salinidad, contribuyeron dichas expansiones poblacionales.

### **Estructura genética poblacional en el Golfo de México**

Los resultados indicaron una falta de estructuración genética dentro del Golfo de México ( $F_{ST} = 0.02478$ , RC; 0.00693, COI) apoyando la hipótesis de un contacto histórico entre individuos de las diferentes localidades. Los resultados de las distancias genéticas son congruentes con ello, dado que entre las localidades se obtuvieron valores bajos (0-0.3%, COI; 1.1-1.7%, RC). Además, el haplotipo con mayor frecuencia se presentó en todos los sitios muestreados. Cabe señalar que considerando las condiciones actuales para cada cuenca, los procesos oceanográficos tales como la formación de remolinos “eddies”, surgencias costeras y en mayor medida, las corrientes oceánicas, éstas debieron haber jugado un rol muy importante en la conectividad de poblaciones de *M. cephalus*.

Esta conectividad genética también puede ser explicada por la capacidad de dispersión de los huevos y larvas, así como las migraciones emprendidas por los adultos en etapa reproductiva, promovido por las corrientes oceánicas que caracterizan esta zona de estudio, apoyando el resultado de ausencia de aislamiento por distancia dentro de la cuenca ( $r = 0.0029$ ,  $P > 0.05$  con 1000 permutaciones, RC). Debido al complejo de corrientes oceánicas, la distancia recorrida por las larvas durante la dispersión puede ser



mucho mayor que la distancia Euclidiana entre los puntos de desove y hábitat posterior (Huyer, 1983).

La dispersión de huevos y larvas juega un papel fundamental en la ecología y la evolución de los organismos marinos (Caley *et al.*, 1996; Strathmann *et al.*, 2002). Se tienen registros de que los huevos y las larvas de *M. cephalus* quedan a expensas de las corrientes oceánicas, de tal forma que este pudo ser el mecanismo más importante en la conexión histórica de localidades distantes. Algunas corrientes oceánicas han resultado clave para la dispersión de ésta y otras especies en el Golfo de México, e.g. la Corriente de Lazo, la Corriente del Golfo y giros que se desprendían de estas (Camper *et al.*, 1993; Gold *et al.*, 1994; Richardson y Gold, 1998; Cruz, 2009).

Dado que las etapas tempranas del ciclo de vida de la lisa están estrechamente relacionadas con la circulación de aguas del Golfo de México, posiblemente los huevos, larvas y adultos en etapa reproductiva activa sigan la misma ruta de las corrientes superficiales y giros ciclónicos y anticiclónicos promoviendo el alto flujo genético entre localidades distanciadas geográficamente. La circulación dentro del Golfo de México está relacionada con la influencia de las aguas cálidas y salinas que entran a través del estrecho de Yucatán y salen por el de Florida. Parte del agua que penetra al Golfo de México por el Canal de Yucatán se devuelve por contracorrientes. A su paso por la cuenca del Golfo, cierto volumen de la corriente forman giros anticiclónicos que se desplazan hacia el interior, estos influyen en las aguas adyacentes generando movimientos en sentido opuesto (giros ciclónicos). El resto del agua sigue su viaje hacia el estrecho de Florida formando un meandro. Este comportamiento configura una franja

ligeramente plegada hacia el este a manera de un cordón o lazo, de donde proviene su nombre “Corriente de Lazo”. Finalmente, la Corriente de Lazo abandona el Golfo de México a través del Estrecho de Florida, originando la Corriente de la Florida, que a su vez se convierte en la Corriente del Golfo (Armstrong y Grady, 1967; Zavala y Fernández, 2004).

Los reportes sobre la extensión de la migración de *M. cephalus* han resultado variables dependiendo del área geográfica. Por ejemplo, en el Atlántico se ha reportado que la lisa puede emprender migraciones reproductivas de más de 400 km (Bernardon y Vall, 2004) y en la costa de Florida y Carolina del Norte en Estados Unidos, entre 32-240 km (Bacheler *et al.*, 2005), esta característica resulta importante durante la etapa de migración reproductiva debido a que le permite a la especie recorrer grandes distancias alejadas de los cuerpos de agua que habita.

Este patrón de conectividad genética entre poblaciones del Golfo de México ha sido reportado también en otras especies como el dorado (*Coryphaena hippurus*) en el que el aporte de flujo génico dentro de la cuenca es debido a las corrientes anteriormente mencionadas que arrastran a huevos, larvas, juveniles y adultos creando homogeneidad en las poblaciones, esto aunado a la presencia de aglomeraciones de *Sargassum spp.*, que proveen protección a dichos organismos (Cruz, 2009). En otro estudio, también con muestreo en el Golfo de México, con el pargo rojo (*Lutjanus campechanus*), los análisis resultaron en una ausencia de estructura filogeográfica, comprendiendo una sola población panmíctica debido al efecto del flujo génico elevado que posiblemente sea en

su etapa de vida pelágica, ya que los huevos y larvas son acarreados por las corrientes superficiales (Camper *et al.*, 1993).

Finalmente, un dato importante es que la localidad que presentó la mayor diversidad de haplotipos fue la de Corpus Christi. Este resultado es interesante pues la Bahía de Corpus Christi, Texas, se localiza separada del Golfo de México por la isla Mustang (*Mustang Island*), y es alimentada por el río Nueces y el arroyo Oso. La bahía, que forma parte del canal navegable intracostera, comunica al noroeste con la bahía de Aransas y al sureste, con la Laguna Madre. El intercambio de aguas con el Golfo de México se produce por el paso Aransas (*Aransas Pass*), lo cual posiblemente tuvo incidencia para que esta localidad presentara la mayor variación genética a nivel de localidades.

### **Estructura genética poblacional en el Pacífico Mexicano**

Dentro del haplogrupo del Pacífico Mexicano también se encontró ausencia de diferenciación genética ( $F_{ST} = 0.00327$ , COI) entre poblaciones. La explicación de estos resultados posiblemente tiene que ver con la cercanía geográfica de las localidades muestreadas, así como por la mezcla de masas de agua promovida por la Corriente de California que fluye hacia el sur y se encuentra con las corrientes Nor-ecuatorial y la Contra Corriente Ecuatorial (Wirtiky, 1965).

Los resultados también indican una alta proporción de haplotipos compartidos entre las localidades del Pacífico Mexicano lo cual puede explicarse por la alta capacidad de dispersión de la especie. Una de las diferencias entre las migraciones que realizan las lisas en el Pacífico con respecto a las del Golfo de México, es la distancia recorrida. Se

tienen reportes de migraciones de hasta 740 km en Australia y China (Lester *et al.* 2009). Aunque para el Pacífico Mexicano no se ha reportado la distancia de migración de la lisa, probablemente también recorra grandes distancias puesto que las corrientes superficiales (e.g. Corriente de California, Corriente Norecuatorial, Corriente Costera de Costa Rica) y giros ciclónicos originados permiten a los huevos, larvas y organismos adultos ser arrastrados a lo largo del Pacífico Mexicano (Wirtiky, 1965; Roughgarden *et al.*, 1988). Además, otra característica dentro del Pacífico Mexicano es que hay un mayor número de surgencias oceánicas que promueven un vasto aporte de nutrientes, lo que facilita la alimentación de larvas y juveniles cuando quedan a expensas de las corrientes y cuando se lleva a cabo la migración reproductiva (Kessler, 2006).

Diversos estudios con peces coinciden con la ausencia de estructura genética poblacional en el Pacífico, específicamente en México, e.g. el pez vela *Istiophorus platypterus* y el merlín rayado (*Kajikia audax*). La homogeneidad genética presentada en estas especies es explicada por diferentes factores, como la alta fecundidad, presencia de una fase larvaria pelágica, el comportamiento migratorio y la alta capacidad de dispersión, además de la ausencia de barreras geográficas (Rubio, 2016; Purcell y Edmands, 2011).

Por último, dentro del haplogrupo Pacífico Mexicano, el mayor número de haplotipos únicos se encontró en la localidad de Mazatlán, Sinaloa, lo cual puede ser explicado por la corriente de California, dado que el flujo de dicha corriente va en dirección norte-sur, fluye hacia el sur a lo largo de la costa de Baja California y gradualmente gira hacia el oeste para alimentar a la corriente norecuatorial, esta trayectoria varía según la

profundidad y la estación del año. Durante los meses de octubre a enero el flujo de esta corriente cambia de dirección hacia el oeste cuando se encuentra con el Golfo de Tehuantepec (Wirtiky, 1965; Kessler, 2006), este proceso coincide con el periodo de desove de *M. cephalus* en el Pacífico Mexicano, por lo que se infiere que es un factor importante en la variabilidad haplotípica de la localidad.

Aunque existen pocos estudios relacionados con la biología y reproducción de *M. cephalus* en el Pacífico Mexicano (Briones-Ávila, 1998; Ramos-Santiago *et al.*, 2010; Espino-Barr *et al.*, 2016), la época de reproducción coincide con las lisas del Golfo de México, a pesar de estar separadas genéticamente eso no impiden que estén sujetas a los mismos factores ambientales (e.g. Vientos alisios) presentes en su distribución geográfica.

### **Especies crípticas de *Mugil cephalus* en México**

En trabajos anteriores se ha propuesto a *Mugil cephalus* como un complejo de especies debido al alto nivel de similitud morfológica y a la alta diferenciación genética entre linajes (Crosetti *et al.*, 1994; Durand y Borsa, 2015; Durand *et al.*, 2016). Con base en el gen COI, nuestros resultados indicaron la presencia de dos haplogrupos, el Golfo de México y el Pacífico Mexicano, caracterizados por una monofilia recíproca y por una diferenciación genética del 4.8%. Este valor se encuentra dentro del intervalo de 3.2-5.4%, propuesto por Durand y Borsa (2015) para definir linajes crípticos dentro del complejo de *M. cephalus*. Cabe señalar, que las distancias genéticas dentro de cada linaje fueron menores al 1%, congruente con lo obtenido por Durand *et al.*, (2016).

Los haplogrupos del presente estudio corresponden a linajes crípticos previamente reportados (Durand y Borsa, 2015; Durand *et al.*, 2016) con base en los genes 16S rRNA, COI y Citocromo b, donde definen como linaje B al Golfo de México y linaje G al Pacífico Mexicano. Estos resultados confirman la presencia de dos especies crípticas de *M. cephalus* para México.

Además, diversos estudios filogenéticos coinciden en que la verdadera *Mugil cephalus* se encuentra en el mar Mediterráneo, cuya descripción original indica que geográficamente habita el Océano Europeo (Linnaeus, 1758; Durand *et al.*, 2012; Durand *et al.*, 2013; Durand y Borsa, 2015).

Cabe mencionar que a través de filogenias moleculares se han obtenido linajes mitocondriales distintos dentro de la Familia Mugilidae y además de *Mugil cephalus* se han reportado otras especies crípticas como *Mugil curema*, y los géneros *Chelon*, *Crenimigul*, *Osteomugil* y *Planiliza* (Durand y Borsa, 2015; Durand *et al.*, 2012; Xia *et al.*, 2016).

## 12. Conclusiones

Las inferencias filogenéticas, redes haplotípicas, distancias genéticas, AMOVA y prueba de Mantel sugieren la presencia de dos haplogrupos en costas mexicanas, uno correspondiente al Golfo de México y el otro correspondiente al Pacífico Mexicano, con ausencia de flujo genético entre ellos y de haplotipos compartidos.

La historia evolutiva de *M. cephalus* consta de diferentes procesos y eventos que han influido en su distribución, en primer instancia el posible contacto histórico a través de conexiones entre el Atlántico-Pacífico; posteriormente la divergencia Golfo-Pacífico hace 1.5 m. a., coincidiendo con el periodo Pleistoceno temprano, luego de la formación del Istmo de Panamá, la cual provocó la reorganización del patrón de circulación oceánica. Y finalmente la presencia de eventos de expansión histórica poblacional.

Los resultados también revelan homogeneidad genética dentro de cada haplogrupo, causado posiblemente por el patrón de migración de la lisa y el efecto de las corrientes oceánicas, que condujeron a un alto grado de flujo génico permitiendo la conectividad entre poblaciones y promoviendo la presencia de una moderada a alta diversidad genética poblacional.

Los haplogrupos se caracterizaron por presentar una monofilia recíproca y una diferenciación genética del 4.8%, sugiriendo que corresponden a dos especies crípticas, que coinciden con los linajes B y G definidos por Durand y Borsa (2015) y Durand *et al.* (2016).

La historia demográfica de las poblaciones evidencia expansiones poblacionales con ambos marcadores mitocondriales, aunque falta determinar los tiempos en los se llevaron a cabo, mediante análisis skyline plot.

La información generada en este estudio es relevante en cuestiones de conservación de la especie, dado que los haplogrupos obtenidos constituyen stocks diferentes. Esta diferenciación permitirá que sean administradas de acuerdo a sus características específicas.



## Recomendaciones

Para futuros trabajos relacionados con genética poblacional de *M. cephalus*, se recomienda incrementar el número de sitios de muestreo en el Pacífico Mexicano, con la finalidad de contar con un escenario evolutivo completo para los dos océanos mexicanos.

Se sugiere elaborar nuevos cebadores específicos de la región control mitocondrial que amplifiquen muestras del Pacífico Mexicano, dado que los cebadores empleados y diseñados en el presente estudio no permitieron obtener resultados satisfactorios.

Se recomienda utilizar otro tipo de marcadores como SNPs, que actualmente se empiezan como alternativa a los microsatélites en los estudios de diversidad genética, con la finalidad de completar la historia evolutiva de la especie, debido a que su tasa de mutación es mayor, permiten detectar eventos o procesos evolutivos más recientes.

Además, se sugiere asignar nuevos nombres taxonómicos a dichas especies crípticas encontradas, ya que estos resultados corroboran lo obtenido en trabajos taxonómicos realizados anteriormente.

## Literatura citada

- Altschul S. F., Gish W., Miller W., E. Myers W. y Lipman D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403–410.
- Amalacher H. 1961. Textbook of Fish Diseases. TFH Publications New Jersey, 234 p.
- Armstrong R. S. y Grady V. R. 1967. Geronimo Cruiser Entira Gulf of Mexico in Late Winter. *Commercial Fisheries Review*. 29(10): 35-40. En Lanza E. G. 1991. Oceanografía de mares mexicanos. Compiladora AGT. Pág. 43.
- Avise J. C. 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York.fut.
- Avise J. C. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *In Molecular Ecology*, 7: 371-379.
- Avise J. C. 2000. Phylogeography, the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, EUA.
- Avise J. C. 2004. Molecular Markers, Natural History, and Evolution. Second Edition. Sinauer, Sunderland, 684 pp.
- Avise J. C., Arnold J., Ball Jr R. M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J. E., Reeb C. A. y Saunders N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Reviews Ecology and Systematics*, 18: 489-522.
- Bachelor N. M., Wong R. A. y Buckel J. A. 2005. Movements and mortality rates of striped mullet in North Carolina. *North American Journal of Fisheries Management*, 25: 361–373.
- Bandelt H. J., Forster P. y Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37–48.

- Bernardon M. y Vall M. O. M. 2004. Mullet in Mauritania: biology, ecology, fisheries and management. Fondation Internationale du Banc d'Arguin-Programme Régionale Conservation de la zone côtière et Marine en Afrique de l'Ouest-Union Internationale pour la Conservation de la Nature, Nouakchott, 54 pp.
- Beu A. G. 2010. Neogene tonnoidean gastropods of tropical and South America: contributions to the Dominican Republic and Panama Paleontology Projects and uplift of the Central American isthmus. *Bulletins of American Paleontology*, 377-378: 1–550.
- Briones-Ávila E. 1998. Biología y pesquería de *Mugil cephalus* en la Laguna de Agua Brava, Nayarit, durante 1992-1994. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. México. 67p.
- Brown J. R., Beckenbach A. T. y Smith M. J. 1993. Intraspecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Molecular Biology and Evolution*, 10: 326–341.
- Brown W. M. 1985. The mitochondrial genome of animals. In: R.J. MacIntyre (Ed.). *Molecular evolutionary genetics*. Plenum, Nueva York, EUA. 95-130 pp.
- Caldara F., Bargelloni L., Ostellari L., Penzo E., Colombo L. y Partanello T. 1996. Molecular phylogeny of grey mullets based on mitochondrial DNA sequence analysis: evidence of a differential rate of evolution at the intrafamily level. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 6: 416-424.
- Caley M. J., Carr M. H., Hixon M. A., Hughes T. P., Jones G. P. y Menge B. A. 1996. Recruitment and the population dynamics of open marine populations. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 27: 477-500.
- Camper J. D., Barber R. C., Richardson L. R. y Gold J. R. 1993. Mitochondrial DNA variation among red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the Gulf of Mexico. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 2: 154-161.

- Chenoweth S. F., Hughes J. M. y Connolly R.C. 2002. Phylogeography of the pipefish, *Urocampus carinirostris*, suggests secondary intergradation of ancient lineages. *Marine Biology*, 141: 542-547.
- Clark U. P., Dyke S. A., Shakun D. J., Carlson A. E., Clark J., Wohlfarth B., Mitrovica X. J., Hostetler W. S. y McCabe M. 2009. The Last Glacial Maximum. *Science*, 325: 710-714.
- Clement M., Posada D. y Crandall K. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9: 1657-1660.
- Coates A. G., Jackson J. G. C., Collins L. S., Cronin T. M., Dowsett H., Bybell L. M., Jung P. y Obando J. A. 1992. Closure of the Isthmus of Panama: the near-shore marine record of Costa Rica and western Panama. *Geological Society of America Bulletin*, 104: 814–828.
- Coates A. y Obando J. 1996. The geologic evolution of the Central American Isthmus. En *Evolution and environment in tropical America*, editado por Jeremy Jackson, Ann Budd y Anthony Coates, University of Chicago press, Chicago, pág. 21-56.
- Colín M. A. 2014. Variabilidad y estructura genética de la lisa *Mugil cephalus* en el Golfo de México y Pacífico Mexicano. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. México.
- Collins M. R. 1985. Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (South Florida) striped mullet. U.S. *Fish Wild life Service Biological Report* 82. 11 pp.
- Cowen R. K. y Sponaugle S. 2009. Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Review of Marine Science*, 1: 443-466.
- Cronin T. M. y Dowsett H. J. 1996. Biotic and oceanographic response to the Pliocene closing of the Central American Isthmus. En *Evolution and Environment in Tropical America* (Eds J. B. C. Jackson, A. F. Budd and A. G. Coates), pp. 76–104. University of Chicago Press, Chicago.

- Crosetti D., Nelson W. S. y Avise J. 1994. Pronounced genetic structure of mitochondrial DNA among populations of the circumglobally distributed grey mullet (*Mugil cephalus* Linnaeus), *Journal of Fish Biology*, 44:47-58.
- Cruz B. J. A. 2009. Estructura genética y filogeografía de las poblaciones de dorado *Coryphaena hippurus* en el Atlántico. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 82 p.
- Curry J. R., Emmel F. J. y Crampton P. J. G. 1969. Holocene history of a strand-plain lagoon coast, Nayarit, Mexico, in Ayala-Castañares, y Phleger, F. B., eds., *Lagunas Costeras –a symposium*: Universidad Nacional Autónoma de México. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization, Simposio Internacional Lagunas Costeras, México, D. F., Nov. 28-30, 1967, Memoria, p. 63-100.
- De Silva S. S. y Silva E. I. L. 1979. Biology of young grey mullet, *Mugil cephalus* L., populations in a coastal lagoon in Sri Lanka. *Journal of Fish Biology*, 15: 9–20.
- Díaz-Pardo E. y Hernández-Vázquez S. 1980. Crecimiento, reproducción y hábitos alimenticios de la lisa *Mugil cephalus* en la Laguna de San Andrés, Tamps. *Anales Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*, México, 23: 109–127.
- Ditty J. G. y Shaw R. F. 1996. Spatial and temporal distribution of larval striped mullet (*Mugil cephalus*) and white mullet (*M. curema*, family: Mugilidae) in the northern Gulf of Mexico, with notes on mountain mullet, *Agonostomus monticola*. *Bulletin of Marine Science*, 59: 271–288.
- Domínguez L. M., Uribe A. M. y Píndaro D. J. 2010. Phylogeography and historical demography of the Pacific Sierra mackerel (*Scomberomorus sierra*) in the Eastern Pacific. *Genetics*, 11:34.
- Domínguez-Domínguez O. y Vázquez-Domínguez E. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32.1: 59–70.
- Durand J. D., Bleil H., Shen K. N., Koutrakis E. T. y Guinand B. 2013. Population genetic structure of *Mugil cephalus* in the Mediterranean and Black Seas: a single

- mitochondrial clade and many nuclear barriers. *Marine Ecology Progress Series*, 474: 243–261.
- Durand J. D., Hubert N., Shen K. N. y Borsa P. 2016. DNA barcoding grey mullets. *Reviews in Fish Biology Fisheries*, Springer Verlag, 27: 233-243.
- Durand J. D., y Borsa P. 2015. Mitochondrial phylogeny of grey mullets (Acanthopterygii:Mugilidae) suggests high proportion of cryptic species. *Comptes Rendus Biologies*, 338: 266-277.
- Durand J.D., Shen K. N., Chen W. J., Jamandre B. W., Blel H., Diop K., Nirchio M., García de León F. J., Whitfield A. K., Chang C. W. y Borsa P. 2012. Systematics of the grey mullets (Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae): Molecular phylogenetic evidence challenges two centuries of morphology-based taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64: 73-92.
- Emiliani C., Gartner S. y Lidz B. 1972. Neogene sedimentation on the Blake Plateau and the emergence of the Central American Isthmus. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology Elsevier Publishing Company*, 11: 1-10.
- Eschmeyer W. N. y Fong J. D. 2015. Catalog of Fishes: species by family/subfamily (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Versión electrónica accesada 03-04-2017
- Espino-Barr E., Gallardo-Cabello M., Puente-Gómez M. y Garcia-Boa A. 2016. Reproduction of *Mugil cephalus* (Percoidei: Mugilidae) off the Central Mexican Pacific Coast. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 7: 180.
- FAO. 2009. *Mugil cephalus*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Saleh, M.A. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual).
- FAO. 2016. Cultured Aquatic Species Information Programme *Mugil cephalus*. Cultured Aquatic Species Fact Sheets. Text by Saleh, M.A. En: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma.

- Fu Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147: 915–925.
- Futuyma D. J. 1997. *Evolutionary Biology*. Third edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Galván-Quesada S., Doadrio I., Alda F., Perdices A., Reina R. G., García V. M., Hernández M. N., Campos A., Bermingham E. y Domínguez-Domínguez O. 2016. Molecular Phylogeny and Biogeography of the Amphidromous Fish Genus *Dormitator* Gill 1861 (Teleostei: Eleotridae). *PLoS ONE*, 11:1-26.
- Garber N. M. 1999. Application of the mitochondrial DNA control region in population structure studies of *Mugil cephalus* (striped mullet) in North America. M.S. Thesis. The University of Southern Mississippi Hattiesburg, MS. 86 pp.
- Gil-López H. A., Náfate-Sarmiento S. y Labastida C. A. 2006. Aspectos biológicos-pesqueros de la lisa (*Mugil cephalus*) en el Sistema Lagunar Huave, estado de Oaxaca, México. Resúmenes III Foro Científico de Pesca Ribereña. Puerto Vallarta, Jal. México Instituto Nacional de la Pesca.
- Gold J. R., Richardson C., Furman C. y Sun F. 1994. Mitochondrial DNA diversity and population structure in marine fish species from the Gulf of Mexico. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51:205-214.
- Gómez-Ortiz G. M. 2002. Evaluación de la pesquería de lisa *Mugil cephalus* en la Laguna Madre, Tamaulipas. Instituto Nacional de la Pesca (INAPESCA). 9 pp.
- González-Castro M. y Minos G. 2016. Sexuality and Reproduction of Mugilidae. En: Crosetti D., y Blaber S. (Eds.). *Biology, Ecology and Culture of Grey Mullet (Mugilidae)* Florida: Taylor & Francis Group, pág. 227-263.
- Graves J. E., McDowell J. R., Beardsley A. M. y Scoles D. R. 1992. Stock structure of the bluefish *Pomatomus saltatrix* along the mid-Atlantic coast. *U. S. Fishery Bulletin*, 90: 703–710

- Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W. y Gascuel O. 2010. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59: 307-21.
- Hall T. 1997. BioEdit: Biological Sequence Alignment Editor for Win95/98/NT/2K/XP/7. [www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html](http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html)
- Harrison I. J. 1995. Mugilidae. pp. 1293–1298. In: W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter and V.H. Niem (eds.). Guía FAO para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca. Pacifico Centro-Oriental, Vol. III. FAO, Roma.
- Harrison I. J. 2002. Mugilidae. pp. 1071–1085. En: K. Carpenter (ed.). FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic, Vol. 2. Bony Fishes Part 1 (Acipenseridae to Grammatidae, Rome, FAO.
- Harrison I. J. 2003. Mugilidae *In* The Freshwater Fishes of Europe, 8 (1) (Miller, P. J., ed.), pp. 1–42. Wiebelsheim, Germany: AULA-Verlag.
- Hartl D.L. y Clarck A. G. 1997. Principles of Population Genetics. 3th Edition. Sinauer Associates Massachusetts, 542 pp.
- Hasegawa M., Kishino H. y Yano T. 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22: 160-174.
- Haug H. G. y Tiedemann R. 1998. Effect of the formation of the Isthmus of Panama on Atlantic Ocean thermohaline circulation. *Nature*, 393: 673-676.
- Haug H. G., Tiedemann R., Zahn R. y Ravelo A.C. 2001. Role of Panama uplift on oceanic freshwater balance. *Geology*, 29: 207-210.
- Herbert P., Cywinska A., Ball, S. y Ward R. 2003. Biological identification through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B.*, 270: 313-321.



- Hey J. y Nielsen R. 2004. Multilocus methods for estimating population sizes, migration rates and divergence time, with applications to the divergence of *Drosophila pseudoobscura* and *D. persimilis*. *Genetics*, 167: 747-760.
- Hubbs L. C. 1948. Changes in the fish Fauna of Western North America correlated with changes in ocean temperature. *Journal of Marine Research*, 7: 459-481.
- Hudson R. R., Slatkin M. y Maddison W. P. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*, 132:583–589.
- Huelsenbeck J. P. y Ronquist F. 2001. MrBayes v.3.2.6: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 754-755.
- Huyer A. 1983. Coastal upwelling in the California current system. *Progress in Oceanography*, 12: 259-284.
- Ibáñez A. L. y Gutiérrez-Benítez O. 2004. Climate variables and spawning migrations of the striped mullet and white mullet in the north-western area of the Gulf of Mexico. *Journal of Fish Biology*, 65: 822–831.
- Ibáñez A. L., Chang C. W., Hsu C. C., Wang C. H., Lizuka Y. y Tzeng W. N. 2012. Diversity of migratory environmental history of the mullets *Mugil cephalus* and *M. curema* in Mexican coastal waters as indicates by otolith Sr: Caratons. *Ciencias Marinas*, 38: 73–87.
- Ibáñez, A. L. y Colín A. 2014. Reproductive biology of *Mugil curema* and *Mugil cephalus* from western Gulf of Mexico waters. *Bulletin of Marine Science*, 90: 941-952.
- INAPESCA. 2014. Plan de Manejo Pesquero de Lisa (*Mugil cephalus*) y Lebrancha (*Mugil curema*), en las costas de Tamaulipas y Veracruz.
- Jamandre B. W., Durand J. D. y Tzeng W. N. 2009. Phylogeography of the flathead mullet *Mugil cephalus* in the north-west Pacific as inferred from the mtDNA control region. *Journal of Fish Biology*, 75: 393-407.

- Ke H. M., Lin W. W. y Kao H. W. 2009. Genetic Diversity and Differentiation of Gray Mullet (*Mugil cephalus*) in the Coastal Waters of Taiwan. *Zoological Science*, 26: 421-428.
- Keigwin, L. D. 1982. Isotopic paleoceanography of the Caribbean and east Pacific: role of Panama uplift in Late Neogene time. *Science*, 217: 350–353.
- Kessler W. S. 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: a review. *Progress in Oceanography*, 69:181–217.
- Kumar S., Tamura K. y Nei M. 2004. Mega v.7.0.26: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. *Briefings in Bioinformatics*, 5: 150-163.
- Lankford R. R. 1977. Coastal lagoons of Mexico –their origin and classification, in Wiley, M. L., ed., *Estuarine Processes*: Nueva York, Academic Press, t. 2, p. 182-215.
- Leigh G. E., O’Dea A. y Vermeij G. J. 2014. Historical biogeography of the Isthmus of Panama. *Biological Reviews*, 89: 148–172.
- Lester R. J. G., Rawlinson S. E. y Weaver L. C. 2009. Movement of sea mullet *Mugil cephalus* as indicated by a parasite. *Fisheries Research*, 96: 129-132.
- Liedloff A. 1999. Mantel: mantel nonparametric test calculator, ver. 2.0. School of Natural Resource Science. Queensland University of Tecnology. Brishbane. Australia.
- Linnaeus C.1758. Division of Fisheries and Oceanography, CSIRO, Australia, Fisheries Synopsis 1.
- Liu J. Y., Brown C. L. y Yang T. B. 2009. Population genetic structure and historical demography of grey mullet, *Mugil cephalus*, along the coast of China, inferred by analysis of the mitochondrial control region. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37: 556–566.
- Livi S., Sola L. y Crosetti D. 2011. Phylogeographic relationships among worldwide populations of the cosmopolitan marine species, the striped gray mullet (*Mugil*

- cephalus*), investigated by partial cytochrome b gene sequence. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39: 121-131.
- Lopera-Barrero N. M., Povh J. A., Ribeiro R. P., Gomes P. C., Jacometo C. B. y da Silva-Lopes T. 2008. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35: 77-86.
- Lunt D. H., Whipple L. E. y Hyman B. C. 1998. Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 7: 1441-1455.
- Manea V. C. y Manea M. 2005. Origin of Modern Chiapanecan Volcanic Arc in southern Mexico inferred from thermal models. In: Rose WI, Bluth GJS, Carr MJ, Ewert WJ, Patino LC, Vallance JW, Eds. Natural hazards in Central America. Geological Society of America, Special Paper 412: 27–38.
- McMahan D. C., Davis P. M., Domínguez-Domínguez O., García-de-León F. J., Doadrio I. y Piller K. R. 2013. From the mountains to the sea: phylogeography and cryptic diversity within the mountain mullet, *Agonostomus monticola* (Teleostei: Mugilidae). *Journal of Biogeography*, 40: 894–904.
- Menezes N. A., De Oliveira C. y Nirchio M. 2010. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). *Zootaxa*, 2519: 59–68.
- Molnar P. 2008. Closing of the Central American Seaway and the Ice Age: A critical review. *Paleoceanography*, 23: 2-15.
- Nelson J. S. 2006. *Fishes of the World*, 4th Ed. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc.
- Nixon K. C. 2002. WinClada. Ver. 1.00.08. Publicado por el autor, distribuido en línea en <http://www.cladistics.com>

- O'Dea A., Rodríguez F., De Gracia C. y Coates A. G. 2007. Patrimonio paleontológico. *Canto Rodado*, 2: 149-179.
- Parker G. P., Snow A. A., Shug M. D., Booton C. y Fuerst P. A. 1998. What molecules Can Tell Us about Populations: Choosing and Using a Molecular Marker. *Ecology*, 79: 361-382.
- Posada D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25: 1253-1256.
- Purcell C. y Edmands S. 2011. Resolving the genetic structure of striped marlin, *Kajikia audax*, in the Pacific Ocean through spatial and temporal sampling of adult and immature fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68: 1861–1875.
- Ramos-Santiago E., Gil-López H., Labastida-Che A. y Gómez-Ortega R. 2010. Reproducción y madurez gonádica de la lisa *Mugil cephalus* en las costas de Oaxaca y Chiapas. *Ciencia Pesquera*, 18: 79-89 pp.
- Reed D. H. y Frankham R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17: 230–237.
- Richardson L. R. y Gold J. R. 1997. Mitochondrial DNA diversity in and population structure of red grouper *Epinephelus morio*, from the Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin*, 95: 174–179.
- Rocha-Olivares A. y Sandoval-Castillo J. R. 2003. Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*. *Ciencias Marinas*, 29: 197–209.
- Rocha-Olivares A., Garber N. M y Stuck K. C. 2005. Structure of the mitochondrial control region and flanking tRNA genes of *Mugil cephalus*. *Hidrobiológica*. 15: 139-149.

- Rodríguez-Serrano E. 2011. Consecuencias de las glaciaciones pleistocénicas sobre la diversidad genética de *Abrothrix olivaceus* (waterhouse) (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae). *Mastozoología Neotropical*, 18:319-330.
- Rogers A. R. y Harpending H. 1992. Populations growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9: 552-569.
- Rossi A. R., Capula M., Crosetti D., Campton D. E. y Sola L. 1998. Genetic divergence and phylogenetic inferences in five species of Mugilidae (Pisces: Perciformes). *Marine Biology*, 131: 213–218.
- Roughgarden J., Gaines S. y Possingham H. 1988. Recruitment dynamics in complex life cycles. *Science*, 241: 1460-66.
- Rozas J. y Rozas R. 1999. DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*, 15: 174–175.
- Rubio C. G. G. 2016. Estructura Genética Poblacional del Pez Vela *Istiophorus platypterus* (Shaw In Shaw & Nodder, 1792). Tesis Doctorado. México. 120 pp.
- SAGARPA. 2011. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca 2011. CONAPESCA, México. 311 pp.
- Schmidt D. N. 2007. The closure history of the Panama Isthmus: Evidence from isotopes and fossils to models and molecules, En: Williams, M., Haywood, A., Gregory, R.D., Schmidt, D.N. (Eds.), Deep time perspectives on climate change - marrying the signal from computer models and biological proxies. *Geological Society of London*, London, pp. 429–444.
- Schneider B. y Schmittner A. 2006. Simulating the impact of the Panamanian seaway closure on ocean circulation, marine productivity and nutrient cycling. *Earth and planetary science letters*, 246: 367–380.

- Schneider S., Roessli D. y Excoffier L. 2000. Arlequin: A software for population genetic data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Italy, Switzerland.
- SGM. 2014. Evolución de la Tectónica en México. <http://portalweb.sgm.gob.mx/museo/riesgos/tectonica/evolucion-tectonica-mexico>
- Shen K. N., Jamandre B. W., Hdu C. C., Tzeng W. N. y Durand J. D. 2011. Plio Pleistocene sea level and temperature fluctuations in the north western Pacific promoted speciation in the globally-distributed flathead mullet *Mugil cephalus*. *Evolutionary Biology*, 83: 1471-2148.
- Shulman, M. J. y Bermingham, E. 1995. Early life histories, ocean currents, and the population genetics of Caribbean reef fishes. *Evolution*, 49: 897–910.
- Slatkin M. 1994. Gene flow and population structure. In *Ecological genetics*, L. A. Real (ed.). Princeton University Press, Princeton, New Jersey. p. 3-18.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457-462.
- Strathmann R. R., Staver R. M. y Hoffman J. R. 2002. Risk and the evolution of cell-cycle durations of embryos. *Evolution*, 56: 708-720.
- Sun P., Shi Z., Yin F. y Peng S. 2012. Genetic variation analysis of *Mugil cephalus* in China Sea based on mitochondrial COI gene sequences. *Biochemical Genetics*, 50: 180-191.
- Tajima F. 1989. Statistical-method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585–595.
- Thomson J. M. 1997. The Mugilidae of the world. *Memoirs of the Queensland Museum*, 41: 457–562.

- Tiessen F. A. 2012. Fundamentos de mejoramiento genético vegetal. Conceptos básicos de genética, biología molecular, bioquímica y fisiología vegetal. 1ª ed. Editorial EAE. Pág. 125-127.
- Vázquez D. E. 2007. Filogeografía y vertebrados. En Eguiarte L. E., Souza V. y Aguirre X. (Comp.). *Ecología Molecular* (pp. 592). México, México: Instituto Nacional de Ecología.
- Velasquillo L. 1994. Neotectónica en el Istmo de Tehuantepec y su impacto en la estimación del riesgo sísmico. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ingeniería, UNAM, México.
- Wainscoat J. 1987. Out of the Garden of Eden. *Science*, 234: 194-196.
- Ward R. D., Zemlak T. S., Innes B. H., Last P. R. y Hebert P. D. 2005. DNA Barcoding of Australia's fish species. *Philosophical Transactions. Royal Society B*, 360: 1847-1857.
- Wilson B. A. y Eigenmann V. I. 2010. The impact of Pleistocene glaciation across the range widespread European coastal species. *Molecular Ecology*, 19: 4535-4553.
- Wirtiky K. 1965. Corrientes superficiales del Océano Pacífico oriental Tropical. *Comisión Interamericana del Atún tropical*, 9: 295-301.
- Xia R., Durand J. D. y Fu C. 2016. Multilocus resolution of Mugilidae phylogeny (Teleostei: Mugiliformes): Implications for the family's taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 96: 161-177.
- Zavala-Hidalgo, J. y Fernández-Eguiarte A. 2004. Propuesta para la regionalización de los mares mexicanos desde el punto de vista de los procesos físicos: el caso del Golfo de México. Taller de Ordenamiento Ecológico Costero. Nov. 15-16, 2004.

## **ANEXO I**

Protocolo de extracción de ADN con sal común modificado por

Lisis:

Colocar la muestra de tejido en un tubo eppendorf de 1.5 ml y deja secar por cerca de 2 horas o secar a 55°C

Posteriormente agregar:

- 410µl de Buffer de extracción n (Tris-Base-HCl, NaCl, EDTA y agua destilada)
- 90µl de SDS al 10%
- 15µl de Proteinasa K (10mg/ml)

Agitar la muestra por 1 minuto e incubar por 2 o 3 horas a 55°C

Precipitación:

Centrifugar a 14000 rpm durante 10 minutos y conservar el sobrenadante. Agregar 200µl de NaCl 5M y agitar hasta que se homogenice. Centrifugar a 14000 rpm durante 10 minutos y conservar el sobrenadante en un tubo nuevo. Agregar 60 µl de Acetato de Sodio 3M y 650 µl de Isopropanol al 100%, frio e incubar a -20°C por dos horas.

Lavado y re suspensión

Centrifugar a 14000 rpm durante 10 min y conservar el pellet. Agregar 200 µl de etanol al 80% y mezclar por cerca de un minuto. Refrigerar por media hora.



Centrifugar a 14000 rpm durante 5 minutos y conservar el pellet, secar a menos de 40°C por al menos una hora. Por último re suspender el pellet con 50 µl de agua destilada. Se puede calentar unos minutos hasta que se disuelva el pellet y agitar para mezclar. Finalmente se conserva en refrigeración.

## ANEXO II

Lista de haplotipos de *Mugil cephalus* encontrados a partir de las secuencias de Citocromo oxidasa I mitocondrial en localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano.

Haplotipo	Localidad e individuo								
H1	Av1	Av2	Av3	Av4	Av8	Av9	Av10	Ap5	
	Ap6	Ap9	Ap10	Ap11	Ap12	Ap13	Ap14	Ce3	
	Ce4	Ce6	Ce7	Ce8	Ce10	Ce11	Ce12	Ch1	
	Ch3	Ch4	Ch5	Ch6	Ch7	Ch9	Ch10	Co2	
	Co3	Co4	Ma2	Ma3	Ma5	Ma8	Ma9	Ma10	
	Sa4	Sa5	Sa6	Sa8	Sa9	Mg6	Mg7	Mg9	
	Mg10	Pa1	Pa6	Ta5	Ta7	Ta8	Ta9	Ta11	
	Ta13	Si1	Si3	Si6	Si12	Si16	Si18	Si19	
H2	Av7	Ch2	Mg8						
H3	Ch8								
H4	Ce5								
H5	Ce9	Co7	Ma7	Mg5					
H6	Ap7								
H7	Ap8								
H8	Sa1								
H9	Sa2								
H10	Sa3								
H11	Sa7	Sa10	Ta6	Ta10	Si2				
H12	Co1								
H13	Co5								
H14	Co6								
H15	Ma1								
H16	Ma4								
H17	Ma6								
H18	Ta2								
H19	Ta12	Si17							
H20	Av5								

H21	Av6
H22	Mg11
H23	Pa3
H24	Si4
H25	Mz1      Cu2
H26	Cu1      Cu3      Cu4      Cu5      Cu6      Cu8      Cu9      Cu10 Mz2      Mz4      MZ5      Mz6      MZ7      Mz10      Su4      Su5 Su6      Su7      Su8      Su10      Su12      Su13      Su14
H27	Mz3
H28	Mz8      Mz9
H29	Cu7      Su3

### ANEXO III

Lista de haplotipos de *Mugil cephalus* encontrados a partir de las secuencias de la Región Control mitocondrial en localidades del Golfo de México.

Haplotipo	Localidad e individuo
H1	Av1      Av8      Ce1      Sa6      Ta5      Ta11
H2	Av2
H3	Av4
H4	Av5
H5	Av6
H6	Av7
H7	Av9
H8	Av11
H9	Av15
H10	Ap1
H11	Ap2
H12	Ap3
H13	Ap4
H14	Ap5
H15	Ap6
H16	Ap10
H17	Ap11
H18	Ap12
H19	Ap13
H20	Ce2
H21	Ce3
H22	Ce4

H23	Ce5
H24	Ce6
H25	Ce10
H26	Ce11
H27	Ce12
H28	Ce14
H29	Ch1
H30	Ch2 Mg8
H31	Ch4
H32	Ch5
H33	Ch6
H34	Ch7
H35	Ch8
H36	Ch16
H37	Ch19
H38	Ch20
H39	Co1
H40	Co2
H41	Co3
H42	Co4
H43	Co5
H44	Co6
H45	Co7
H46	Ma1
H47	Ma2
H48	Ma3
H49	Ma4
H50	Ma5
H51	Ma7
H52	Ma8
H53	Ma9
H54	Ma14
H55	Ma15
H56	Sa1
H57	Sa2
H58	Sa3
H59	Sa4
H60	Sa5
H61	Sa7
H62	Sa8
H63	Sa9
H64	Sa10
H65	Si1

H66	Si2
H67	Si3
H68	Si4
H69	Si6
H70	Si12
H71	Si16
H72	Si17
H73	Si18
H74	Si19
H75	Mg1
H76	Mg2
H77	Mg3
H78	Mg4
H79	Mg5
H80	Mg6
H81	Mg7
H82	Pa1
H83	Pa3
H84	Ta1
H85	Ta2
H86	Ta3
H87	Ta4
H88	Ta6
H89	Ta7
H90	Ta9
H91	Ta21





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

### ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00172

Matrícula: 2151803977

Filogeografía de *Mugil cephalus* L. 1758 (Mugiliformes: Mugilidae), en localidades del Golfo de México y Pacífico Mexicano

En la Ciudad de México, se presentaron a las 16:30 horas del día 10 del mes de julio del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. ALEJANDRA SERRATO DIAZ  
M. EN C. LAURA MARGARITA MARQUEZ VALDELAMAR  
M. EN C. HECTOR SALVADOR ESPINOSA PEREZ  
DRA. FLOR RODRIGUEZ GOMEZ

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA

DE: ZANNI HERNANDEZ PEREZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



ZANNI HERNANDEZ PEREZ  
ALUMNA

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI  
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA

DRA. ALEJANDRA SERRATO DIAZ

VOCAL

M. EN C. LAURA MARGARITA MARQUEZ VALDELAMAR

VOCAL

M. EN C. HECTOR SALVADOR ESPINOSA PEREZ

SECRETARIA

DRA. FLOR RODRIGUEZ GOMEZ