



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **Caracterización Genética y Ambiental del Dorado (*Coryphaena hippurus* L.) en el Pacífico Colombiano**

**Bruna Rafaela Caetano Nunes**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Posgrados  
Palmira, Colombia

2013



# **Caracterización Genética y Ambiental del Dorado (*Coryphaena hippurus* L.) en el Pacífico Colombiano**

**Bruna Rafaela Caetano Nunes**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Doctor en Ciencias Agrárias, Área Producción Animal Tropical**

Directora:

Ph.D. Angela Inés Guzmán

Codirector:

Ph.D. John Josephraj Selvaraj

Línea de Investigación:

Producción Animal Tropical

Grupos de Investigación:

Recursos Hidrobiológicos

Recursos Fitogenéticos Neotropicales

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Posgrados

Palmira, Colombia

2013



*Aos faróis de minha existência:  
Maria Victoria Caetano Nunes  
Barroso Bonfá, Creucí Maria Caetano  
e Diego Geraldo Caetano Nunes*

*Dedico*

*Nuestra recompensa se encuentra en el  
esfuerzo y no en el resultado.*

*Un esfuerzo total es una victoria completa.*

*Mahatma Gandhi*

## **Agradecimientos**

A mi padre, Clodoaldo Franchi Nunes, por todos los consejos útiles para la vida, a la familia y a la nueva familia, con Raul Pazdiora, por el apoyo incondicional;

A mis directores de tesis, profesores Dra. Ángela Inés Guzmán y Dr. John Josephraj Selvaraj, por la orientación y tiempo dedicado a esta propuesta;

Al profesor Dr. Víctor Hugo García-Merchand, Universidad del Quindío, por la asesoría en los análisis genético-moleculares;

Al profesor Dr. Allan Giraldo, Universidad del Valle, por transmitirme los conocimientos teórico-prácticos de Oceanografía;

A la profesora Dra. Inés Sánchez, Universidad Nacional de Colombia, por enseñarme Genética de Poblaciones;

Al profesor Dr. Jaime Eduardo Muñoz, director del Laboratorio de Biología Molecular UNAL sede Palmira, por facilitar el acceso, y al Magíster Diego Fernando Marmolejo, por el apoyo y enseñanza de las técnicas moleculares;

A las ingenieras Adriana Martínez Arias y Karol Viviana Coronado y al biólogo Chrystian Camilo Sosa Arango, por su tierna amistad y por el apoyo en los análisis de SIG;

A Adriana Artilles y a Yuliesky Garcés, del Centro de Investigaciones Pesqueras de Cuba, por la colaboración y capacitación en Biología Molecular Marina.

A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, por el apoyo económico a través de la Beca Nacional para estudiante sobresaliente;

A los Grupos de Investigación en Recursos Hidrobiológicos y en Recursos Fitogenéticos Neotropicales (GIRFIN), Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, por el apoyo económico en determinadas fases de desarrollo de la tesis;

Al Proyecto MADR2007T6605-353, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, por el apoyo económico en las colectas de muestras;

A mis amigos, a los pescadores como Don Guilherme, Don Pio y José Rafael del Sepúlveda Rodgers y, a todas las personas que de alguna forma me apoyaron todo el tiempo.



## Resumen

*Coryphaena hippurus* L. (dorado) es uno de los grandes peces pelágicos tropicales y un importante recurso pesquero para el Pacífico Colombiano, sin embargo, faltan estudios regionales acerca de su estructura genética poblacional y distribución. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo por objetivo general analizar la estructura genética del dorado y caracterizar las variables ambientales que influyen sobre su distribución espacial y temporal en la Cuenca Pacífica Colombiana. Con el apoyo de los diferentes parámetros de genética de poblaciones a nivel molecular y de los Sistemas de Información Geográfica - SIG, se identificó la estructura genética poblacional y los niveles de variabilidad genética del dorado en esta región, encontrando dos poblaciones – una en Nariño y la segunda conformada por Valle del Cauca y Chocó. Además, se relacionó la distribución espacial y temporal de las poblaciones de dorado con las variables ambientales. La Temperatura Superficial del Mar (TSM) y clorofila-a (Chl-a) fueron las variables que más afectaron la especie, determinando su nicho ecológico. Estos resultados podrán ser utilizados para diseñar estrategias adecuadas para su manejo.

**Palabras clave:** *Coryphaena hippurus* L., estructura genética, Pacífico Colombiano, variables ambientales.

## Abstract

*Coryphaena hippurus* (dolphinfish) is one of the large pelagic tropical fish and an important fishery resource of the Colombian Pacific. However, regional studies on its population genetic structure are lacking. Therefore, this study aimed to analyze the genetic structure of dolphinfish and to characterize environmental variables which influence its spatial and temporal distribution in the Colombian Pacific basin. With the support of different parameters of population genetic at molecular level and Geographic Information Systems (GIS), population genetic structure and levels of genetic variability of dolphinfish in this region were identified, finding two populations – the first one in Nariño, and other conformed

by Valle del Cauca and Chocó. In addition, relationship between spatial and temporal distribution of dolphinfish stocks with environmental variables were established. The sea surface temperature (SST) and chlorophyll-a (Chl-a) are the variables that more affected the species, determining its ecological niche. These results may be used to design appropriate strategies for species management.

**Keywords:** *Coryphaena hippurus* L., genetic structure, Colombian Pacific, environmental variables.

# Contenido

	<b>Pág.</b>
Resumen.....	09
Abstract.....	09
Lista de figuras.....	13
Lista de tablas.....	17
Lista de símbolos y abreviaturas.....	18
Introducción.....	20
<b>1. Antecedentes.....</b>	<b>24</b>
1.1 Descripción general del dorado ( <i>Coryphaena hippurus</i> L.).....	24
1.2 Hábitat y biología.....	24
1.2.1 Migración.....	27
1.2.2 Genética poblacional del dorado.....	29
1.3 Importancia económica y producción pesquera.....	32
<b>2. Mayor eficiencia de una metodología no invasiva para la extracción de ADN de <i>Coryphaena hippurus</i> L.....</b>	<b>37</b>
<b>3. Estructura genética poblacional del dorado (<i>Coryphaena hippurus</i> L.) en el Pacífico Colombiano.....</b>	<b>48</b>
<b>4. Modelación de nicho para el dorado (<i>Coryphaena hippurus</i> L.) en Pacífico Colombiano, según la TSM, Chi-a, SLA y batimetría.....</b>	<b>70</b>
<b>5. Conclusiones y recomendaciones.....</b>	<b>91</b>
5.1 Conclusiones.....	91
5.2 Recomendaciones.....	93
<b>A. Anexo: Protocolo de extracción de ADN total de tejidos animales.....</b>	<b>95</b>
<b>B. Anexo: Resultado de la Prueba t para muestras independientes.....</b>	<b>97</b>

<b>C. Anexo: Frecuencia de ocurrencia de todos los haplotipos identificados en <i>Coryphaena hippurus</i> para el ADN mitocondrial (ND1) por localidad geográfica muestreada.....</b>	<b>99</b>
<b>D. Anexo: Datos de la ubicación (latitud/ longitud) de las localidades geográficas muestreadas y de las variables ambientales (TSM, ChI-a y SLA) obtenidas por localidad.....</b>	<b>103</b>
<b>E. Anexo: Matriz de integración de los datos genéticos (haplotipos) con los datos de las variables ambientales (TSM, ChI-a y SLA) obtenidos por localidad geográfica muestreada.....</b>	<b>107</b>
<b>F. Anexo: Uso de Maxent para modelar la distribución natural potencial de dorado en el Pacífico Colombiano.....</b>	<b>111</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>115</b>

## Lista de figuras

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1-1:</b> Dorado ( <i>Coryphaena hippurus</i> ), uno de los principales representantes de la familia Coryphaenidae (FAO, 2011).....	2
	5
<b>Figura 1-2:</b> Dimorfismo sexual en macho (A) y hembra (B) de dorado (Rosales-Morales, 2007).....	2
	5
<b>Figura 1-3:</b> Distribución mundial del dorado. Las cuadrículas representan los registros de distribución de la especie por unidad de célula; Los cuadros rojos: >101; Naranjas: 51-100; Amarillos: 11-50; Verdes: 6-10; Azules: 1-5 registros (OBIS, 2013).....	2
	6
<b>Figura 1-4:</b> Movimiento estacional generalizado y la distribución de dorado en el Atlántico centro-occidental, el Caribe y el Golfo de México. Las flechas en rojo indican el movimiento norte y las en azul, el movimiento hacia el sur. Esta representación está basada en Oxenford y Hunte (1986). (Farrell y Halpin, 2009).....	2
	8
<b>Figura 1-5:</b> Captura industrial y artesanal de dorado ( <i>Coryphaena hippurus</i> ) en el Pacífico Colombiano durante los años de 2006-2008 (MADR, 2009).....	3
	5
<b>Figura 2-1:</b> Sitios de muestreo del dorado ( <i>C. hippurus</i> ) en la Zona Económica Exclusiva (EEZ) del Pacífico Colombiano, frente a los departamentos de Chocó (norte del país) y Valle del Cauca (centro).....	

	4
	2
<b>Figura 2-2:</b> Sitios de muestreo del dorado ( <i>C. hippurus</i> ) en la Zona Económica Exclusiva (EEZ) del Pacífico Colombiano, frente a el departamento de Nariño (sur).....	4
	2
<b>Figura 2-3:</b> Ejemplares de dorado capturados durante el crucero en 2009 (Proyecto MADR2007T6605-353).....	4
	3
<b>Figura 2-4:</b> Análisis de la extracción de ADN, sin adición de RNAsa, de los ejemplares de dorado en gel de agarosa a 0,8%. Muestras de aleta dorsal identificadas por un número seguido de la letra A, mientras la de músculos por M.....	4
	5
<b>Figura 2-5:</b> Fragmento de 751 pb del gen mitocondrial de la NADH deshidrogenasa subunidad 1 (ND1) de las muestras de aletas dorsales de dorado. Celda 1: marcador de peso molecular de 100 bp.....	4
	6
<b>Figura 3-1:</b> Red de haplotipos de secuencias de ADN mitocondrial (ND1) construidas mediante el método “Median Joining Network” para <i>Coryphaena hippurus</i> . Los tamaños de los pasteles dentro de cada red son proporcionales a su frecuencia. Los sitios de muestreo están codificados con colores: Chocó (naranja), Valle del Cauca (morado) y Nariño (azul), y además el <i>Outgroup</i> (Atlántico) en gris.....	5
	9
<b>Figura 3-2:</b> Representación gráfica del análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de haplotipos de <i>Coryphaena hippurus</i> del ADN mitocondrial (ND1) utilizando las localidades de muestreo geográfico para definir los grupos genéticos y con la inclusión del <i>Outgroup</i> (Atlántico). Los genotipos se representan como puntos, y los grupos genéticos son representados por elipses que definen las agrupaciones al 95%. Los valores de Eigenvalues muestran la cantidad de la información genética contenida en cada componente principal. Los ejes X e Y	

corresponden a los dos primeros componentes principales respectivamente.....	6
.	2
<b>Figura 3-3:</b> Análisis discriminante de componentes principales por individuo de <i>Coryphaena hippurus</i> para el ADN mitocondrial (gen ND1) y sitios de muestreo en el Pacífico Colombiano y <i>Outgroup</i> – Atlántico .....	6
	3
<b>Figura 3-4:</b> Curva de distribución ( <i>Mismatch Distributions</i> ) y valores obtenidos para las secuencias del ADN mitocondrial (ND1) de <i>Coryphaena hippurus</i> en el Pacífico Colombiano. La línea sólida del histograma representa la diferencia entre pares esperada, mientras la línea punteada los valores observados. (A) Chocó; (B) Valle del Cauca; (C) Nariño.....	6
	6
<b>Figura 3-5:</b> Agrupamientos genéticos de <i>Coryphaena hippurus</i> para el ADN mitocondrial (gen ND1) en el Pacífico Colombiano.....	6
	8
<b>Figura 4-1:</b> Sinopsis de la metodología empleada para elaboración de matriz para integración de las variables ambientales TSM, Chl-a y SLA con los datos genéticos.....	7
	6
<b>Figura 4-2:</b> Etapas para la modelación del nicho ecológico del dorado ( <i>C. hippurus</i> ) en la Cuenca Pacífica Colombiana.....	7
	9
<b>Figura 4-3:</b> Distribución espacio-temporal de la TSM, Chl-a y SLA en el Pacífico Colombiano de acuerdo con el Análisis de Componentes Principales .....	8
	2
<b>Figura 4-4:</b> Dendrograma de similaridad de haplotipos por sitio de muestreo del dorado (Nariño, Valle del Cauca y Chocó) en el Pacífico Colombiano, relacionados con TSM, Chl-a y SLA.....	8
	4
<b>Figura 4-5:</b> Resultado grafico de la prueba de Jackknife para <i>Coryphaena hippurus</i> en el Pacífico Colombiano para calcular el valor de contribución de cada variable	

usada para modelación en *MaxEnt* v3.3.3k. Las barras representan cada variable, en color azul se representa la contribución de la variable, en color verde, se representa el valor de la prueba sin la variable y en color rojo se muestra el valor de todas las variables combinadas..... 8

6

**Figura 4-6:** Distribución potencial (probabilidad de presencia) de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano, en función de variables ambientales que afectan su distribución..... 8

7

**Figura 4-7:** Distribución potencial umbralizada de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano, de acuerdo con el modelo de predicción. .... 8

8

**Figura 4-8:** Área bajo la curva (AUC) para el modelo de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano. El grafico muestra sensibilidad vs especificidad. El área en azul es la desviación estándar después de 25 replicas. La línea en rojo representa (AUC), en letras se muestra el valor de AUC calculado para el modelo.....

8

8



## Lista de tablas

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1-1:</b> Registros históricos de capturas de dorado en el Pacífico Colombiano.....	34
<b>Tabla 3-1:</b> Cebadores utilizados en la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el dorado (Wingrove, 2000).....	54

**Tabla 3-2:** Datos de las muestras de *Coryphaena hippurus* analizadas y sus niveles de diversidad genética mitocondrial (ND1) para el Pacífico Colombiano..... 57

**Tabla 3-3:** Valores de distancias genéticas  $\Gamma_{ST}$  para el ADN mitocondrial (ND1) entre pares de poblaciones *Coryphaena hippurus*..... 61

**Tabla 3-4:** Prueba de neutralidad y tiempos de coalescencia de *Coryphaena hippurus* para el ADN mitocondrial (ND1) en el Pacífico Colombiano..... 64

**Tabla 4-1:** Valores promedios de TSM, Chl-a y SLA obtenidos en los sitios de muestreo del dorado, en el Pacífico Colombiano..... 81

**Tabla 4-2.** Contribución de la varianza de las variables ambientales (TSM (°C), Chl-a (mg.m<sup>-3</sup>) y SLA (cm)) a los dos primeros Componentes Principales..... 83

**Tabla 4-3:** Análisis de la contribución de TSM (°C), Chl-a (mg.m<sup>-3</sup>), SLA (cm) y batimetría (m) para la modelación del nicho de *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Colombiano..... 86

## Lista de símbolos y abreviaturas

Abreviatura	Término
ACMR	Ancestro Común Más Reciente

ADN/DNA	Ácido desoxirribonucleico/Desoxirribonucleic Acid
ADNmit	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
AVISO	Archiving Validation and Interpretation of Satellite Oceanographic data( <a href="http://www.aviso.oceanobs.com/en/data.html">http://www.aviso.oceanobs.com/en/data.html</a> )
BLASTn	Basic Local Alignment Search Tool
Chl-a	Clorofila-a
Chip	Codificación utilizada para los haplotipos de <i>Coryphaena hippurus</i> en el presente estudio.
CPC	Cuenca Pacífica Colombiana
CPUE	Captura por Unidad de Esfuerzo
CNES	Centro de Estudios Espaciales de Francia
DAPC	Análisis Discriminante de Componentes Principales
dNTP	Desoxirribonucleótidos Fosfatados
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EEZ	Zona Económica Exclusiva
ENFA	Análisis Factorial de Nicho Ecológico
ENSO	El Niño – Oscilación Sur, La Niña
	Etopo 1 Global Relief Model ( <a href="http://www.ngdc.noaa.gov/mgg/global/global.html">http://www.ngdc.noaa.gov/mgg/global/global.html</a> )
MaxEnt	Distribución de Máxima Entropía
MGET	Marine Geospatial Ecology Tools
MODIS	Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (satélite AQUA – NASA Ocean Color, <a href="http://oceancolor.gsfc.nasa.gov">http://oceancolor.gsfc.nasa.gov</a> )
ND1	Gen mitocondrial de Nicotinamida deshidrogenasa subunidad 1
NCBI	National Center for Biotechnology Information ( <a href="http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/">http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/</a> )
OBIS	Ocean Biogeographic Information System
Pb	Pares de bases
PCA	Análisis de Componentes Principales
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
R	Raster
RFLPs	Restriction Fragments Length Polymorphism
SIG/GIS	Sistemas de Información Geográfica
SLA	Anomalías del Nivel del Mar
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris-borato EDTA
TSM	Temperatura Superficial del Mar
UV	Ultra violeta
ZCIT	Zona de Convergencia Intertropical
<b>Símbolo</b>	<b>Término</b>
cm	centímetro
°C	grado Celsius
km	kilómetro

km <sup>2</sup>	kilómetro cuadrado
m	metro
μl	Microlitro
μM	micromolar
ml	mililitro
min	minutos
M	molar
ng	nanogramo
pmoles	Picomoles
%	porcentaje
t	tonelada

## Introducción

Históricamente, a nivel global los humanos han dependido y dependen de la pesca en diferentes niveles, sea como fuente de empleo en la industria pesquera, como forma de subsistencia y/o como fuente de alimento de alta calidad. El pescado es un alimento altamente nutritivo, por lo que aún en pequeñas cantidades proporciona nutrientes vitales ausentes en los productos amiláceos típicos, que predominan en la dieta de las personas pobres (FAO, 2007). Según la FAO (2012), el pescado proporciona a más de 3,0 millones de personas, por lo menos el 20% de su consumo medio per cápita de proteína animal. Esta proporción puede alcanzar el 90% en los pequeños Estados insulares en desarrollo (PEID) o en las zonas costeras (FAO, 2012).

Como fuente de empleo o subsistencia, además de las personas directamente empleadas en la pesca, genera empleos indirectos como el suministro de pescado (comercio, procesamiento, transporte, ventas al detalle, etc.); actividades de apoyo (la construcción de embarcaciones, fabricación de redes, fabricación y reparación de motores, prestación de servicios a los pescadores y abastecimiento de combustible para barcos de pesca, etc.). Tomando en cuenta estas otras actividades, más de 200 millones de personas dependen de la pesca en pequeña escala en los países en desarrollo, además de los millones a quienes la pesca da ingresos suplementarios (FAO, 2012).

En el caso de las pesquerías colombianas, los registros estadísticos de los últimos años muestran que las capturas ascienden anualmente aproximadamente 100.000 toneladas (Díaz *et al.*, 2011); correspondiendo el 80% a capturas en el Pacífico y suministran empleo a 37.000 personas ocupadas en las faenas de pesca y en plantas de procesamiento de productos pesqueros (Díaz *et al.*, 2011). En el Pacífico colombiano, la pesca es del tipo semi-industrial y artesanal, la primera está orientada a la exportación y la segunda

enfocada principalmente al mercado interno, considerada básicamente una pesca de subsistencia. Sin embargo, ambas actividades desempeñan un importante papel socio-económico en el país.

A pesar de la importancia de las pesquerías, suministrando seguridad alimentaria y sustento para la pesca artesanal, semi-industrial e industrial, la falta de un ordenamiento pesquero conlleva a que muchas poblaciones de diferentes especies de peces estén sobreexplotadas o corran el riesgo de estarlo (Hilborn *et al.*, 2003; FAO, 2012). De acuerdo con las estadísticas de la FAO (2012), la producción de las pesquerías marinas mundiales alcanzó su cota máxima en el decenio de 1980. A lo largo de los últimos años casi el 50% de las pesquerías han sido explotadas al máximo de su capacidad, el 25% ha estado sobreexplotada, colapsando o yendo en declive, y sólo 25% ha mostrado potencial de aumento de la producción.

Además del desplome de esas poblaciones, la sobrepesca ha causado la disminución de la variabilidad y de su capacidad de recuperación, limitando las capturas y como consecuencia reduciendo los ingresos y la eficiencia económica (Hsieh *et al.*, 2006).

Las especies de interés comercial, e incluso ciertas especies marinas altamente reproductivas, pueden llegar a extinguirse (Sadovy y Cheung, 2003), al igual que aquellas capturadas incidentalmente, provocando pérdidas en la biodiversidad acuática (Worm *et al.*, 2006; Allan *et al.*, 2005). Esto repercutirá en procesos ecológicos como la depredación (Myers *et al.*, 2007), la bio-erosión (Bellwood *et al.*, 2003), la provisión de alimento a las aves marinas (Jahncke *et al.*, 2004) y el transporte de los nutrientes (Allan *et al.*, 2005). Al introducir una nueva presión selectiva dominante, la pesca afecta el carácter genético de las poblaciones (Hutchings, 2000).

Las pesquerías y las comunidades pesqueras asociadas aún son también susceptibles a un amplio espectro de repercusiones ocasionadas por el cambio climático (IPCC, 2007); como el incremento de la Temperatura Superficial del Mar, pérdida de humedales costeros, el blanqueamiento de los corales y los cambios en la distribución y cronología de los flujos hídricos, además de la acidificación de los océanos. Estos efectos pueden

---

consecuentemente llevar a la alteración de la producción pesquera, ejerciendo graves impactos en los ecosistemas marinos (Orr *et al.*, 2005).

Por lo tanto, se hace necesario y urgente garantizar la manutención del recurso pesquero de forma sostenible, considerándose las distintas variables que influyen sobre el mismo, como los cambios en la dinámica oceanográfica, la sobreexplotación y la degradación de hábitats. Principalmente en el caso de una especie que representa un recurso de interés económico importante, la evaluación y el conocimiento de sus poblaciones desde diversas perspectivas (biológica-pesquera, ecológica, genética, oceanográfica, social, política e institucional) y el posible efecto ambiental que moldea su distribución espacio-temporal, tienen grande relevancia en su manejo y conservación (Díaz-Jaimes *et al.*, 2006; Gutiérrez *et al.*, 2012).

En el Pacífico Colombiano, después del atún y el camarón, el dorado (*Coryphaena hippurus* L.), también conocido como dolphinfish, mahi-mahi, perico o llampuga, es la especie más capturada y comercializada, convirtiéndose en uno de los objetivos principales del desarrollo de las pesquerías (Lasso y Zapata, 1999). Como alimento, por ser una especie altamente migratoria, aporta grandes volúmenes de pesca no solo en el Pacífico Tropical Oriental como también en el Mediterráneo, Caribe, Atlántico e Índico (Erdman, 1956; Mahon *et al.*, 1981; Norton y Crooke, 1994; Massutí y Morales-Nin, 1995; Arocha *et al.*, 1999; Lasso y Zapata, 1999; Mahon y Oxenford, 1999; Patterson y Martínez, 1991; Schwenke y Buckel, 2008; Díaz-Jaimes *et al.*, 2010). Es comercializado en fresco o congelado; su carne es de excelente calidad y de alto valor económico (Fischer *et al.*, 1995; Gutiérrez *et al.*, 2012).

A pesar de su importancia socioeconómica y alimentaria, aunque existan varios estudios mundiales sobre el dorado, hacen falta los regionales, en cuanto a su estructura genética poblacional y a las variables ambientales que conforman sus hábitats. Estos van a permitir la obtención de un mejor conocimiento de su historia de vida y en contribución a diseñar nuevas medidas de manejo y mejorar las existentes, buscando mantener su disponibilidad a través de su uso sustentable (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Además, en Colombia, la carencia de una política pesquera clara, la baja gobernabilidad de la autoridad pesquera, el poco presupuesto que se le ha asignado en los últimos años

y el fomento nulo, entre otras, han hecho que la actividad de pesca de dorado no cuente con una planificación de su desarrollo y sus respectivas medidas de manejo y administración, lo que a mediano y/o largo plazo puede afectar directamente la disponibilidad del recurso (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Por lo tanto, son planteadas las siguientes hipótesis: 1. Existen diferencias genéticas entre las poblaciones de dorado (*C. hippurus*) en el Pacífico colombiano; Y, su respectiva hipótesis de nulidad. 2. Las variables ambientales (Temperatura Superficial del Mar, clorofila-a y anomalías del nivel del mar) influyen sobre la distribución espacial y temporal del dorado en el Pacífico Colombiano; Y, su respectiva hipótesis de nulidad.

Para responder a las hipótesis, el objetivo general de esta tesis fue analizar la estructura genética del dorado (*Coryphaena hippurus* L.) y caracterizar las variables ambientales que influyen sobre la distribución espacial y temporal de la especie en el Pacífico Colombiano.

Para poder desarrollar este objetivo, se establecieron los siguientes objetivos específicos:

1. Identificar la estructura genética poblacional y los niveles de variabilidad genética del dorado, en el Pacífico Colombiano.
2. Relacionar la distribución espacial y temporal de la(s) población(es) de dorado del Pacífico colombiano con las variables ambientales (Temperatura Superficial del Mar, clorofila-a y nivel del mar).

Los resultados obtenidos podrán ser utilizados para diseñar medidas adecuadas en el manejo de este recurso pelágico, para garantizar la conservación de la especie y la manutención del recurso pesquero.

Para una mejor comprensión del trabajo, esta tesis se ha estructurado en cinco (5) capítulos. En el Capítulo 1 se presentan los antecedentes, con la descripción general del dorado, hábitat y biología de la especie, importancia económica y producción pesquera. El capítulo 2 comprende la estandarización de un protocolo de extracción de ADN de dorado. El capítulo 3, la estructura genética poblacional del dorado en el Pacífico Colombiano. En el capítulo 4 se propone la modelación de nicho para el dorado en el Pacífico Colombiano. Finalmente, en el capítulo 5 se presentan las conclusiones de la tesis.



# 1. Antecedentes

## 1.1 Descripción general del dorado (*Coryphaena hippurus* L.)

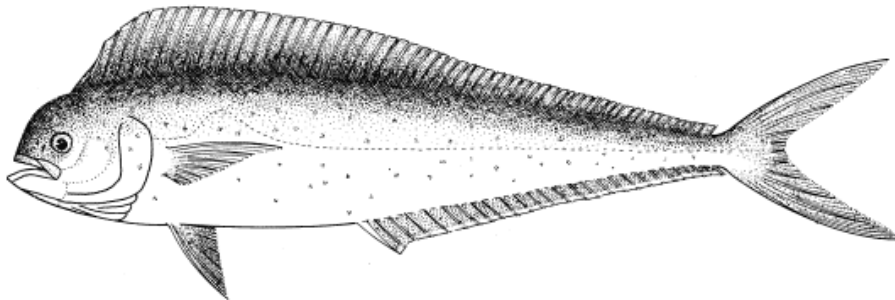
El dorado es una de las especies de peces de grandes pelágicos oceánicos, perteneciente a la familia Coryphaenidae (Figura 1-1). En el Pacífico se han registrado dos especies, *Coryphaena equiselis* (Linnaeus, 1758) y *Coryphaena hippurus* (Linnaeus, 1758), también conocidos como pompano y dorado, dolphinfish, perico, mahi-mahi o lampuga, respectivamente. *C. hippurus* es más común en las pesquerías, alcanza una talla máxima de 2 m, tiene cuerpo más alargado y comprimido, la altura máxima del cuerpo es menor del 25% de la longitud estándar en los adultos; área dentada de la lengua es pequeña y ovalada; una sola aleta dorsal que se extiende desde una línea vertical a través del ojo hasta casi la aleta caudal, con 55 a 65 radios; aletas pectorales más de la mitad de la longitud de la cabeza; aleta caudal es profundamente ahorquillada. Es una especie dioica, donde los adultos presentan dimorfismo sexual; en los machos mayores a 30 cm se desarrollan una cresta frontal ósea, que le da el aspecto vertical a la cabeza (Fischer *et al.*, 1995) (Figura 1-2).

## 1.2 Hábitat y Biología

La especie es cosmopolita y pelágica oceánica, pero en ocasiones se acerca a la costa. Sigue a los barcos y forma pequeñas concentraciones debajo de objetos flotantes. Desova en altamar, probablemente cuando la temperatura del agua aumenta, con evidente influencia de la isoterma de 28°C durante el verano y el otoño, mientras que durante la primavera la isoterma de los 24°C fue la de mayor influencia en el Pacífico mexicano (Sánchez Reyes, 2008). Sus huevos eclosionan alrededor de 38 horas, sobre la base de una relación predictiva entre diámetro de los huevos, temperatura del agua y el tiempo de

desarrollo; sus larvas se distribuyen por debajo de los 50 m de profundidad (Ditty *et al.*, 1994). Presenta preferencia por los sitios de desove, regresando a los mismos en cada periodo de reproducción (Oxenford, 1999).

**Figura 1-1.** Dorado (*Coryphaena hippurus* L.), uno de los principales representantes de la familia Coryphaenidae (FAO, 2011).



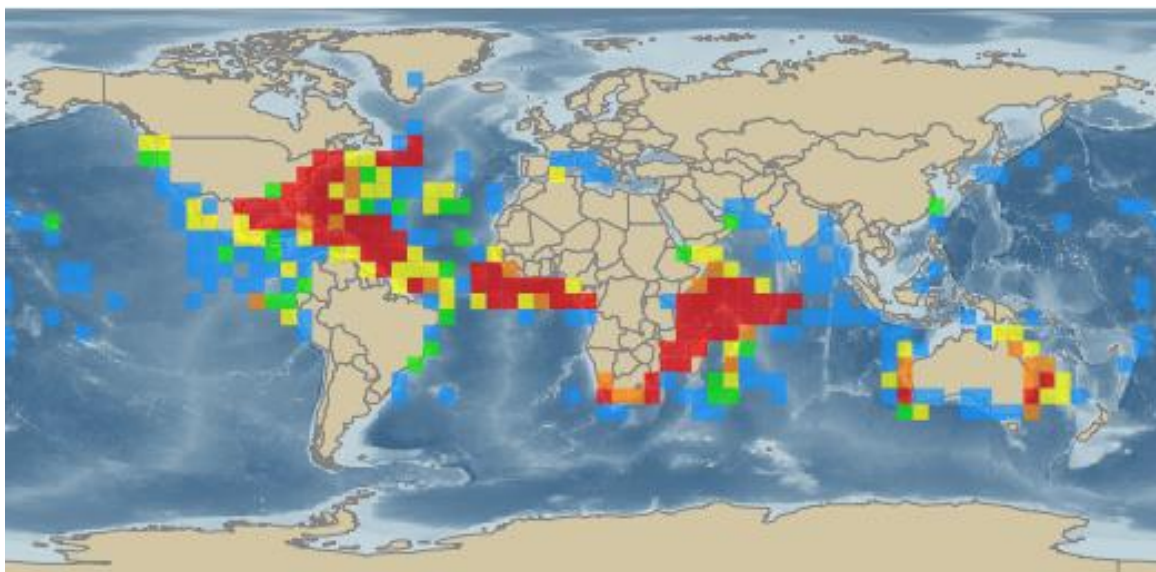
**Figura 1-2.** Dimorfismo sexual en macho (A) y hembra (B) de dorado (Rosales-Morales, 2007).



Habita los mares templados y tropicales de todos los océanos. Tolerancia de temperaturas desde los 15°C a 29°C, con temperaturas óptimas entre los 25°C a 28°C. Se encuentra distribuido entre los 46°N y 38°S, 180°W y 180°E, presentando una distribución vertical entre 0 y 85 m (CNDM, 2008) (Figura 1-3). En el Pacífico Oriental se distribuye desde San Diego, California (Estados Unidos) hasta Antofagasta (Chile) (Solano-Sare *et al.*, 2008), destacándose en el Pacífico Centro-oriental. También aporta importantes volúmenes de

alimento en el Caribe y en la costa Atlántica, de Estados Unidos a Brasil (Peralta, 2007; Farrell y Halpin, 2009).

**Figura 1-3.** Distribución mundial del dorado. Las cuadrículas representan los registros de distribución de la especie por unidad de célula; Los cuadros rojos: >101; Naranjas: 51-100; Amarillos: 11-50; Verdes: 6-10; Azules: 1-5 registros (OBIS, 2013).



El dorado presenta un crecimiento rápido, alcanzando la madurez sexual con 50 cm de longitud horquilla durante su primer año de vida; además tiene la capacidad de desovar varias veces por año (Beardsley, 1967). Es un depredador generalista, con amplio espectro trófico y hábitos alimentarios estrechamente ligados con el ambiente epipelágico (Aguilar-Palomino *et al.*, 1998; Lasso y Zapata, 1999; Herrera *et al.*, 2008). Se alimenta principalmente de peces menores a su tamaño, seguido por los cefalópodos y crustáceos (Fischer *et al.*, 1995; Lasso y Zapata, 1999; Herrera *et al.*, 2008). Por ejemplo en el sur de México (Baja California) se determinó que de los organismos presas, los peces representaron el 56,3%, los cefalópodos el 23,1% y los crustáceos el 20,6%, siendo el pez volador (*Exocoetus spp.*) y el calamar (*Dosidiscus gigas*), las presas más importantes (Aguilar-Palomino *et al.*, 1998).

### 1.2.1 Migración

El dorado es una especie migratoria, o sea, los individuos de su población realizan un desplazamiento sistemático durante las distintas fases de su vida, lo cual puede ser tanto

vertical como horizontal. El conocimiento acerca de esa característica contribuye para que se pueda predecir cuándo y dónde se encontrarán en altas concentraciones, favoreciendo la formación de los llamados “bancos de pesca” y, por lo tanto, zonas de gran captura. Además de esa ventaja, hay otras razones para estudiar la migración de la especie. Una de ellas se debe a que sus poblaciones son compartidas por dos o más países, llevando a problemas en la identificación de estas, en razón de hacerse una correcta división y manutención de ese recurso y al empleo de la legislación específica (Hauser y Carvalho, 2008).

En el Pacífico Colombiano hay un patrón estacional de las capturas totales, con picos de abundancia de diciembre a marzo, reflejando el patrón migratorio de la especie (Lasso y Zapata, 1999; Baos-Estupiñán, 2013). Basados en la proporción de sexos (1 macho: 0.96 hembras) encontrada en las capturas, en el hecho de que 100% de las hembras capturadas se presentaron ovadas y que ningún de los individuos presentó una talla inferior a los 50 cm de longitud estándar, supone que la presencia del dorado en esas áreas se debe posiblemente a una migración de tipo reproductivo (Lasso y Zapata, 1999).

Beardsley (1967) habla de la posibilidad de que el dorado presente migraciones latitudinales de más de 400 km para completar su ciclo de vida y, aún hoy no se tiene un conocimiento de estas rutas entre varias jurisdicciones. Campos *et al.* (1993) indicaron que los patrones de migración de esta especie están asociados con la circulación de las corrientes dominantes en el Golfo de Panamá. Oxenford y Hunte (1986) señalaron los mismos criterios para establecer la ruta de migración del dorado en el Caribe (Figura 1-4) y relacionarla con diferentes condiciones de hábitat para la especie durante su ciclo de vida.

Una forma de estudiar los desplazamientos y el crecimiento de los peces puede ser mediante un programa de marcado. Farrell y Halpin (2009), usando datos de liberación y recaptura de animales y modelos espaciales multivariados (ENFA), analizaron las preferencias ambientales del dorado, sus hábitats y movimientos. Los resultados indicaron fuerte sensibilidad del dorado a la Temperatura Superficial del Mar (TSM) y a la concentración de clorofila-a (Chl-a). Los análisis de liberación y recaptura demostraron que la especie es capaz de cruzar varias jurisdicciones marinas durante su vida, lo que

evidencia su patrón migratorio y también refleja la insuficiencia actual de la gestión del recurso, por ser compartido por varios países, apoyando un nuevo enfoque a la política y la gestión de dorado en el Atlántico Centro-occidental, el Caribe y el Golfo de México.

**Figura 1-4.** Movimiento estacional generalizado y la distribución de dorado en el Atlántico centro-occidental, el Caribe y el Golfo de México. Las flechas en rojo indican el movimiento norte y las en azul, el movimiento hacia el sur. Esta representación está basada en Oxenford y Hunte (1986), citada de Farrell y Halpin (2009).



Otra alternativa para adquirir información sobre la migración de especies es la genética poblacional, la cual ha sido una forma indirecta pero poderosa de estudiar la conectividad marina, particularmente en la evaluación de influencias históricas (Dawson *et al.* 2001) y en el descubrimiento de barreras crípticas a la dispersión (Sandoval-Castillo *et al.* 2004). Los resultados obtenidos con el análisis de la diversidad genética, flujo génico y demás parámetros de la genética de poblaciones pueden generar información importante respecto a los recursos pesqueros, demostrando la importancia de incorporar metodologías genéticas y principios más completos en la gestión de esos recursos (Hauser y Carvalho, 2008).

### 1.2.2 Genética poblacional del dorado

El dorado, al igual que otros peces pelágicos migratorios, tiene una gran movilidad, un gran tamaño poblacional y una alta capacidad reproductiva, que podrían limitar la diferenciación genética entre sus poblaciones (Graves, 1998). Los patrones de estructura genética en las poblaciones marinas están asociados a una variedad de mecanismos de dispersión y de escalas espaciales. Estas especies reafirmaban la noción de un medio ambiente marino abierto y continuo, haciendo suponer homogeneidad genética a grandes escalas geográficas, sólo existiendo diferenciación entre sus límites de distribución o entre cuencas oceánicas (Rocha-Olivares *et al.*, 2006).

La heterogeneidad genética se ha encontrado en algunas especies después de analizar los marcadores microsatélites polimórficos tanto en áreas extensas, como en el caso del marlín rayado (McDowell y Graves, 2008) y el atún aleta amarilla en el Océano Pacífico (Appleyard *et al.*, 2001), como en zonas más restringidas, como el caso del atún rojo en el Mediterráneo (Carlsson *et al.*, 2004) y el arenque del Atlántico en Noruega (Shaw *et al.*, 1999). Esto sugiere que algunos factores biológicos y oceanográficos limitan el flujo genético.

Características particulares del dorado como la abundancia y reproducción estacional ha sido asociada a su conducta migratoria en diversas regiones del mundo, como en el Pacífico Central (Hawai) (Kraul, 1999), el Pacífico Oriental (Lasso y Zapata, 1999), el Atlántico Occidental, el Caribe (Arocha *et al.*, 1999; Rivera y Appeldoorn, 2000), y el Mediterráneo (Massutí y Morales-Nin, 1995). Sin embargo, las variaciones en la abundancia también pueden estar asociadas con la presencia de divergencia entre poblaciones, basada en diferencias en la frecuencia alélica aloenzimática (Oxenford y Hunte, 1986).

Herzig (1990) observó diferencias entre dorados capturados en Hawai y Taiwán en secuencias del gen del citocromo b del ADN mitocondrial, a pesar de no ser éste un estudio de genética poblacional, menciona que si el análisis de secuencias señala diferencias, con un mayor tamaño de muestra se podrían probar diferentes stocks y comprender mejor la estructura poblacional de la especie.

Estudios de marcado han mostrado que la especie puede exhibir rangos hogareños limitados, ya que la mayoría de los individuos fueron recapturados alrededor de los mismos objetos flotantes donde fueron originalmente marcados (Kingsford y Defries, 1999).

Tanto los rangos hogareños restringidos como los pulsos demográficos temporal y espacialmente localizados pueden favorecer la existencia de una estructura poblacional en stocks diferenciados y de heterogeneidad genética. En la zona del Pacífico Nororiental el estudio comparativo en tallas de dorados capturados en tres épocas del año sugieren la presencia de diferentes subpoblaciones, lo que se atribuye a las condiciones ambientales (Madrid y Beltrán-Pimienta, 2001).

Díaz-Jaimes *et al.* (2006) en el Pacífico Mexicano, trataron de probar estas diferencias a través de la secuenciación de 751pb del gen ND1 mitocondrial, encontrando homogeneidad genética espacial y temporal en Baja California sur, Sinaloa, Sonora y Chiapas. Por los bajos niveles de diversidad de nucleótidos superficial, sugirieron la presencia de importantes fluctuaciones en el tamaño de la población o el rango de expansión, concluyendo que no está claro si la explotación de dorado en una determinada área afecta a toda la población. Sin embargo, Rocha-Olivares *et al.* (2006), utilizando RFLPs para el mismo gen, detectaron heterogeneidad genética para la misma área y Hawaii, indicando heterogeneidad genética de la especie a escalas geográficas menores a las predichas por las generalizaciones anteriores.

Bobadilla-Jiménez (2007) también detectó, con el uso de microsatélites, heterogeneidad genética en el Pacífico Mexicano, reflejando la presencia de una estructura genética entre las poblaciones evaluadas, a pesar de la cercanía geográfica. Resultados similares fueron encontrados por Rosales-Morales (2007), con el análisis del gen de la hormona de crecimiento, sugiriendo una relación entre las distancias geográficas y las distancias genéticas. Tripp-Valdez *et al.* (2010), empleando microsatélites, demostraron una alta variación genética y flujo génico en el Golfo de California. Los análisis detectaron una sutil, pero significativa heterogeneidad espacial y temporal, sugiriéndose que algunos factores biológicos u oceanográficos pueden limitar el flujo génico.

En estudios de demografía histórica y conectividad de las poblaciones de dorado del Atlántico, Índico, Pacífico y Mediterráneo, empleando secuencias parciales del gen NAD1

mitocondrial, el AMOVA reveló importante divergencia interoceánica, con tres filogrupos situados en el Indo-Pacífico, en el Atlántico Oriental y en el Mediterráneo, siendo el último el más divergente (Díaz-Jaimes *et al.*, 2010). Sin embargo, no se observó claramente una diferenciación genética entre las poblaciones del Indo-Pacífico y del Atlántico, como se ha registrado para las especies pelágicas tropicales como el atún (Alvarado-Bremer *et al.*, 1998) y el marlín (Graves y McDowell, 2001).

Los procesos contemporáneos e históricos, incluyendo pasado demográfico y/o rangos de expansión, contacto secundario, dispersión, flujo génico y el logro de grandes tamaños de población efectiva pueden desempeñar un papel en la detección de señales de divergencia, especialmente en el caso de especies pelágicas tropicales, cuyo rango de distribución depende en gran medida de la Temperatura Superficial del Mar. Esto apoya la hipótesis de la reciente dispersión entre las cuencas facilitada por la actual distribución continua de las poblaciones de dorado. Por otra parte, la falta de señales de divergencia para poblaciones separadas por el Istmo de Panamá revela que la deriva genética no ejerce una fuerte influencia en las especies pelágicas tropicales con grandes tamaños efectivos de la población (Díaz-Jaimes *et al.*, 2010).

El estudio de genética de poblaciones de dorado para zonas del Pacífico Oriental y principalmente para la cuenca del Pacífico Colombiano aún es incipiente e inexistente en el último caso, no hay información acerca de la estructura genética de la especie. Hacen falta estudios genéticos en la región, que contribuyan en la toma de decisiones para el manejo sostenible de la especie, teniendo en cuenta que la evidencia de diferenciación genética poblacional del dorado en otras partes del mundo indica que la especie puede presentar subpoblaciones a lo largo de su distribución (Oxenford y Hunte, 1986; Cimmaruta *et al.*, 1998), sugiriendo manejos diferenciados para el recurso pesquero.

Lo óptimo es que la información que develen los análisis genéticos sea complementada con datos de esfuerzo pesquero regional, así como de estudios de la dinámica poblacional, ecología de la especie, variables ambientales y demás que influyen en su distribución. Información fundamental e indispensable para proponer programas y estrategias de manejo particular y/o global para la especie, encaminándonos a la conservación y manejo de su explotación de manera sostenible.



### 1.3 Importancia económica y producción pesquera

Colombia posee territorios marinos en el Mar Caribe y en el Océano Pacífico. El Pacífico Colombiano cuenta con una zona económica exclusiva de 339.500 km<sup>2</sup> aproximadamente, una plataforma continental y cinco bancos importantes de pesca (Colombia, Tumaco, Pasacaballos, Naya y Gorgona), en los cuales se encuentran especies transzonales (atún y dorado), recursos de pesca blanca y especies demersales (Estupiñán y Zapata, 2011).

Una de las áreas más productivas dentro del Océano Pacífico es la región Este Tropical del mismo, ya que presenta una interconexión ecológica y unas características oceanográficas complejas por sus múltiples corrientes marinas, que generan afectación de migraciones y distribución de gran variedad de especies de vital importancia (Secretaría Técnica Pro Tempore-CMAR, en línea). En Colombia, este océano presenta una variedad de recursos hidrobiológicos que reúne casi todos los ambientes y ecosistemas marinos del Pacífico Oriental Tropical, siendo una de las áreas de mayor diversidad del Pacífico Americano y generando una actividad pesquera de importancia social y económica (Equipocolombiapacifico.com, en línea).

Primero fueron los pueblos indígenas, para quienes desde tiempos precolombinos el pescado y los mariscos constituían parte fundamental de su dieta. Luego, las comunidades afrodescendientes, que heredaron las costumbres y prácticas asociadas a la explotación de los recursos del mar. Estos recursos empezaron a ser explotados gradualmente y, con mayor intensidad a mediados del siglo XX, donde durante la década de los ochenta, ante un inusitado aumento de la demanda de pescado a nivel mundial, este se incrementó vertiginosamente (Díaz *et al.*, 2011).

El dorado se captura industrial, semi-industrial y artesanalmente con palangre de superficie o línea de anzuelos y la red de enmalle o mallador (Gutiérrez *et al.*, 2012). El calamar se considera como una de las carnadas más efectivas para su captura. Se comercializa en fresco o congelado, entero o en filetes, la carne es de excelente calidad y de alto valor económico (Fischer *et al.*, 1995). En la parte occidental del Océano Pacífico se captura en mayor volumen por la flota japonesa “shiira-zuke”, mientras que en el Pacífico Oriental es capturado mayoritariamente por la flota palangrera de Ecuador y Costa Rica (Peralta, 2007). Aunque no hay una flota especializada para la pesca de este recurso en Colombia,

existen diferentes embarcaciones que lo capturan, principalmente la flota de barcos de camarones de aguas profundas, como pesca alternativa durante la temporada de mayor abundancia, meses en los cuales es factible, efectiva y rentable (Lasso y Zapata, 1999; Baos-Estupiñan, 2013).

La especie también presenta gran potencial para la acuicultura ya que tiene resistencia a cambios bruscos de salinidad, rápido crecimiento, buena eficiencia en la conversión de comida, alta fecundidad en desoves naturales en cautiverio y alto precio en el mercado (Gutiérrez *et al.*, 2012).

En el Pacífico Colombiano, juntamente con especies como atunes, pargos y tiburones, el dorado representa un importante aporte a la productividad pesquera. Los registros históricos oficiales de capturas de dorado en esta región en el periodo comprendido entre los años 1991 y 2010, muestran que los años de mayores capturas fueron 1997, 2001 (el más alto) y 2002, y las más bajas en 1999 y 2004 (Tabla 1-1). Por su rendimiento pesquero se puede evidenciar que las capturas de la especie representan un volumen importante, representativo a nivel social por la generación de empleo y por los ingresos producidos (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Para el año de 2010, fueron desembarcadas entre 417 y 497 t de dorado por la captura artesanal e industrial, respectivamente. Además, por volumen desembarcado, es la especie que presentó mayor producción pesquera a nivel nacional, con un volumen total de 765 t, de las cuales 98% de los desembarcos se realizaron en el litoral Pacífico, en los municipios de Buenaventura (departamento del Valle del Cauca) y Tumaco (departamento de Nariño) (CCI, 2011). En ese mismo año, se incrementaron en un 34% los desembarcos en Buenaventura para la pesca industrial y, en un 83,9% en Tumaco para la pesca artesanal. En Bahía Solano (departamento del Chocó), hubo un descenso del 26,8% total de la pesquería, debido a la disminución del 88% del desembarco de dorado en la pesca artesanal (CCI, 2011). Los desembarcos para los años de 2010 a 2013 alcanzaron 1.373 toneladas anuales, con la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) oscilando entre los 106,2 y los 670 kg/faena (pesca artesanal e industrial, respectivamente) (Baos-Estupiñan, 2013).

**Tabla 1-1.** Registros históricos de capturas de dorado en el Pacífico Colombiano.

<b>Año</b>	<b>Cantidad (t)</b>	<b>Año</b>	<b>Cantidad (t)</b>
1991	267,30	2001	2376,40
1992	356,90	2002	1979,10
1993	350,00	2003	821,10
1994	486,10	2004	66,30
1995	289,20	2005	346,20
1996	727,10	2006	387,80
1997	1868,60	2007	464,00
1998	742,40	2008	377,80
1999	67,10	2009	429,00
2000	1204,70	2010*	913,70

Tabla modificada de Gutiérrez *et al.*, 2012.\*Datos MADR-CCI (2010), CCI (2011).

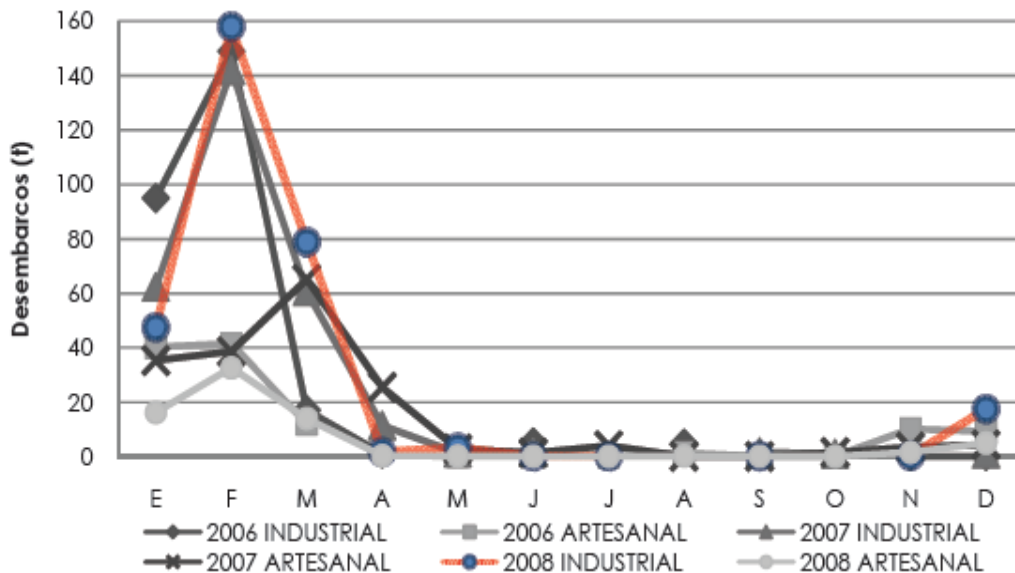
En Ecuador, se han identificado dos periodos de pesca, con cuotas de captura específicas (CONVEMAR): el primero entre agosto – octubre, donde los desembarcos están conformados por juveniles (capturados en aguas internacionales al sur de Ecuador y norte de Perú), sus tallas promedio oscilan entre 70 y 90 cm de longitud total y el esfuerzo pesquero es bajo. El segundo, entre diciembre – marzo, con desembarcos conformados por adultos principalmente (capturados en la zona costera de Ecuador), con un esfuerzo pesquero del 90% y tallas superiores a 100 cm de longitud total. Por lo tanto, existe una coincidencia entre el segundo período de capturas de Ecuador con la temporada de pesca de dorado en Colombia (Herrera *et al.*, 2008).

La especie puede ser encontrada anualmente en la región del Pacífico Mexicano (Cabo San Lucas), presentando altos índices de capturas durante el verano y otoño, correspondiendo con la temperatura superficial del mar más cálida (28–30°C), y capturas mínimas en el invierno y primavera cuando la TSM es alrededor de 22°C (Torres, 1996). Es factible que las fluctuaciones en la distribución regional de esta especie sean dependientes de cambios físicos en las condiciones oceanográficas, especialmente en lo que respecta a la temperatura superficial del mar (TSM) (Norton y Crooke, 1994; Zúñiga-Flores *et al.*, 2008).

En el Pacífico Colombiano la especie también presenta una marcada estacionalidad en la Captura por Unidad de Esfuerzo (C.P.U.E.), entre los meses de diciembre a marzo, con mayor abundancia en febrero y marzo (Lasso y Zapata, 1999, Baos-Estupiñan, 2013) (Figura 1-5). Durante esta época, la especie ingresa al Pacífico Colombiano, siendo muy variable la distancia de la costa a la que se desplazan, lo que influye en los rendimientos pesqueros. Esas capturas se concentran en el norte del Pacífico Colombiano y están

asociadas con áreas donde frecuentemente se forma un giro de menor temperatura, altas concentraciones de clorofila-a (Chl-a) y con frentes térmicos (Selvaraj *et al.*, 2010a) y con los efectos climáticos de El Niño y La Niña (Baos-Estupiñán, 2013). Durante la presencia del fenómeno El Niño en el año de 2010, el recurso fue capturado durante cinco meses y fueron observados registros de individuos con tallas mayores y un mejor rendimiento en cuanto a la CPUE (Baos-Estupiñán, 2013).

**Figura 1-5.** Captura industrial y artesanal de dorado (*Coryphaena hippurus*) en el Pacífico Colombiano durante los años de 2006-2008 (MADR, 2009).



Además de su importancia comercial, como uno de los objetivos principales en el desarrollo de las pesquerías (Lasso y Zapata, 1999), el dorado tiene importancia ecológica, siendo productores y redistribuidores de biomasa y energía a distintos ecosistemas a través de la cadena alimenticia (Rosales-Morales, 2007). Aunque existen varias investigaciones sobre la especie a nivel biológico y pesquero alrededor del mundo y en Colombia (Puentes, 1995; Lasso y Zapata, 1999; Valverde *et al.*, 1999; INPA/VECEP, 2000; Gutiérrez *et al.*, 2012), faltan estudios regionales acerca de sus aspectos genéticos, ambientales, etológicos, ecológicos, etc., que permitan obtener un conocimiento amplio de este recurso, y de esta manera establecer medidas de manejo más adecuadas.

Por ser una especie migratoria, su aprovechamiento es compartido por varios países del Pacífico Este Tropical, que tienen diferentes maneras (o no tienen ninguna) de aproximarse al manejo y administración del recurso. Aunque todavía no hay estudios que demuestren que el stock aprovechado por estos países es el mismo, el comportamiento estacional del recurso sugiere que se trata de una población que es compartida por todos estos países (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Perú, Ecuador y Costa Rica hacen un importante aprovechamiento de dorado, mientras que Colombia y Panamá no tanto, en comparación con los anteriores. Ecuador es el único país que tiene un Plan de Acción Nacional para Dorado (CONVEMA) y un proceso de eco-certificación de la pesquería, lo que denota la importancia del recurso para este país y ha establecido una temporada de veda para el mismo (Gutiérrez *et al.*, 2012).



## **2. Mayor eficiencia de una metodología no invasiva para la extracción de ADN de *Coryphaena hippurus* L.**

### **Major efficiency of a non-invasive method for extracting DNA from *Coryphaena hippurus* L.**

#### **Resumen**

*C. hippurus* (dorado) es uno de los grandes peces pelágicos tropicales, considerado un importante recurso pesquero para el Pacífico Colombiano. Todavía, faltan estudios regionales acerca de su estructura genética poblacional. Por lo tanto, un protocolo de extracción de ADN y el efecto del tipo de tejido material para obtener material de dorado en cantidad y calidad óptimas para estudios moleculares fue evaluado. El ADN de 25 especímenes fue extraído a partir de la digestión de la aleta dorsal y del músculo, con proteinasa K, utilizando kit de extracción para sangre y tejido animal. Su integridad fue visualizada sometiendo el gel a UV y fotografiándose en seguida. La cuantificación fue hecha adicionando a cada gel, ADN Lambda en concentraciones de 30, 45 e 60 ng/μl. La calidad fue probada a través de la técnica de PCR, utilizándose cebadores específicos para el gen mitocondrial de NADH deshidrogenasa subunidad 1 (ND1). Fueron obtenidas bandas de ADN en todas las muestras, sin embargo las aletas presentaron una mayor cantidad. Esas muestras, almacenadas en alcohol 70% y mantenidas a 4°C, después de 20 meses de colecta, mantuvieron su calidad y buen estado de conservación, permitiendo estudios a largo plazo. La definición de una metodología adecuada de extracción de ADN puede contribuir a los estudios de estructura genética de la especie. La extracción de ADN de la aleta dorsal de dorado, metodología no invasiva, es una buena alternativa ambiental,

social y comercialmente adecuada, donde la colecta de muestras no requiere el sacrificio del animal y ni altera su valor económico.

**Palabras clave:** aleta dorsal, bandas de ADN, dorado, Pacífico colombiano.

## Abstract

*C. hippurus* (dolphinfish) is one of the biggest tropical pelagic fish, considered an important fishing resource of the Colombian Pacific. However regional studies about its genetic population structure are lacking. Therefore, a protocol for DNA extraction and effect of the type of tissue material for obtaining DNA from dolphinfish in high quantity and quality for molecular studies was evaluated. The DNA of 25 individuals was extracted from the digestion of the muscle and the dorsal fin, with proteinase K, and the extraction kit for blood and animal tissue. Its integrity was visualized by subjecting the gel to UV light and then photographing. The quantification was performed by adding the Lambda DNA to each gel in concentrations of 30, 45 and 60 ng/μl. The quality was proved through the PCR technique, by using specific primers for the mitochondrial gene of NADH dehydrogenase sub-unity 1(ND1). DNA bands were obtained in all the samples, however, dorsal fins samples showed a high amount of DNA. These samples, stored in 70% ethanol and refrigerated at 4°C after 20 months of collection, maintained their quality and good condition of DNA, allowing long term studies. The definition of an appropriate methodology of DNA extraction can contribute to studies of genetic structure of the species. DNA extraction from dolphinfish dorsal fins, non-invasive method, is an alternative that is environmentally, socially and commercially viable, where sample collection does not require the sacrifice of the animal and do not alter its economic value.

**Key words:** dorsal fin, DNA bands, dolphinfish, Colombian Pacific.

## 2.1 Introducción

Las pesquerías marinas en Colombia tienen un importante papel socio-económico, suministrando seguridad alimentaria y sustento para la pesca artesanal y semi-industrial (Lasso y Zapata, 1999). Junto con otras especies pelágicas, el dorado (*Coryphaena*



---

*hippurus*) es un importante recurso pesquero, tanto ecológica como comercialmente para el Pacífico colombiano. Se comercializa en fresco, siendo su carne de excelente calidad y de alto valor económico (Fischer *et al.*, 1995).

A pesar de su importancia, hacen falta estudios regionales que lleven al conocimiento de la estructura genética de la especie, buscando detectar la variabilidad genética dentro o entre la(s) población(es), lo que puede ser un componente decisivo para su sobrevivencia a mediano y largo plazo (Solé-Cava, 2001). La identificación de esas poblaciones debe ser una de las preocupaciones básicas en los programas de control y conservación de referida variabilidad genética y, consecuentemente, en programas de manejo y conservación de la especie (Awise, 2000; Foster y Vincent, 2004).

Los conocimientos respecto al ADN, materia prima para cualquier estudio de genética (Sollero *et al.*, 2004), evolucionaron mucho de su estado experimental y, actualmente, están plenamente incorporados a la conservación de las especies, de forma práctica y eficiente. El aislamiento del ADN es una etapa importante en el análisis de la estructura y organización del genoma de los animales. Independiente del tipo de estudio molecular, las preparaciones de ADN deben producir muestras puras suficientes para no inhibir los tratamientos enzimáticos o generar interferencias en los patrones de migración en el gel de electroforesis (Romano y Miranda, 1999). Especialmente en lo que respecta al uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en los cuales los excesos de estructuras celulares y proteínas pueden inhibir el proceso de amplificación (Saiki, 1990). Además, tratándose de regiones genómicas a ser secuenciadas, es de extrema importancia que este ADN sea puro y libre de proteínas.

Por lo tanto, estudios básicos sobre metodologías específicas que puedan optimizar una extracción de buena calidad, para que las regiones deseadas sean ubicadas y amplificadas, son de gran importancia para el desarrollo de investigaciones en el campo de la biología molecular (Marengoni *et al.*, 2006). De esa forma, la colecta y conservación de las muestras es parte clave de los diferentes protocolos de análisis genética. Dos procedimientos pueden ser utilizados en la obtención de muestras de ADN: la metodología invasiva y la no invasiva.

La metodología invasiva utiliza procedimientos quirúrgicos para sacar las muestras de tejidos internos. Posee como desventaja la presentación de heridas que pueden ser una puerta de entrada para infecciones o que pueden producir la muerte en los peces, además de dañar la materia-prima en la comercialización, en el caso de la cooperación entre pescadores e investigadores. Las muestras invasivas más comunes son de músculo y de hígado (Lopera-Barreto, 2007).

La metodología no invasiva es más atractiva y más utilizada, por presentar sencillez en la colecta y en el almacenamiento (normalmente en alcohol etílico 70% o 100%), por la facilidad del protocolo de extracción y por la cantidad y calidad de ADN extraído, a partir de tejidos externos. Tipos de muestras no invasivas son aletas (Nam *et al.*, 2003; Wasko *et al.*, 2003; Vieira *et al.*, 2005; Povh *et al.*, 2005; Lopera-Barrero, *et al.*, 2006; Marengoni *et al.*, 2006; Gomes, 2007; Lopera-Barrero *et al.*, 2008; Almeida *et al.*, 2009; Garcia *et al.*, 2010 ; Parpinelli y Ribeiro, 2009), sangre (Pineda Santis *et al.*, 2004), escamas (Yue y Orban, 2001; Wasko *et al.*, 2003; Borges *et al.*, 2006), células bucales (Livia *et al.*, 2006), óvulos (Aranishi, 2006) y larvas (Povh, 2007; Gomes, 2007).

Considerando la necesidad de un método no invasivo, rápido, práctico, de bajo costo, libre de contaminación y de toxicidad, y eficaz en cuanto a la calidad y cantidad, el objetivo de la presente investigación fue estandarizar el protocolo de extracción de ADN y evaluar el efecto del tipo de tejido (aleta o músculo), en *C. hippurus*.

## 2.2 Materiales y Métodos

### Ubicación geográfica y descripción del área de estudio

La Cuenca Pacífica Colombiana (CPC) se ubica geográficamente entre los paralelos 01°30' hasta los 07°10' de latitud Norte y entre los 77°40' y 82°00' de longitud Oeste. Sus límites geográficos son las aguas del Golfo de Panamá, al Norte; el litoral occidental de Colombia, integrado por los departamentos de Chocó, Valle del Cauca, Cauca y Nariño, al Este; las aguas de la costa ecuatoriana y la cordillera submarina de Carnegie (1350 km longitud, 300 km de ancho), al Sur; el océano Pacífico, las aguas territoriales de la República de Panamá (30 km) y la cordillera de Cocos (aproximadamente 200 km de ancho, 1000 km de longitud) al Oeste (CCCP, 2002).

La zona costera del Pacífico Colombiano está incluida dentro de la franja conocida como la ensenada de Panamá (“Panamá Bight”). Esta zona puede definirse como la parte del Pacífico Oriental Tropical localizada entre el Istmo de Panamá (5°N) y la Punta de Santa Elena, Ecuador (2°S) y que se extiende desde las costas de Panamá, Colombia y Ecuador hasta la longitud de 81° W (Cantera, BLAA en línea).

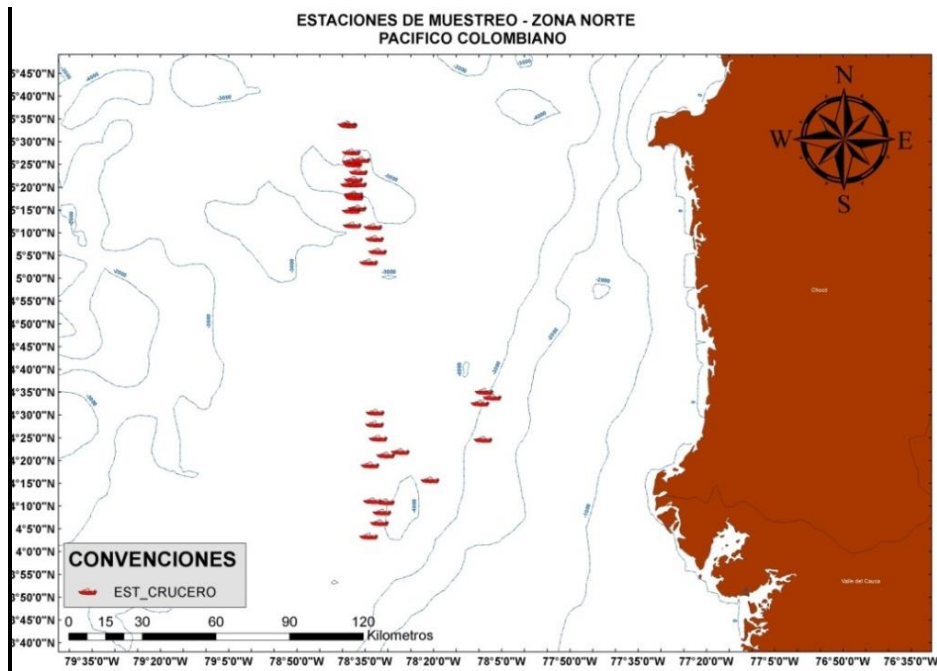
La CPC se caracteriza por ser una región de bajas presiones atmosféricas conocida como Concavidad Ecuatorial, en la cual convergen los vientos Alisios de cada hemisferio para formar la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) y se ve afectada también por fenómenos como el ENSO (El Niño – Oscilación Sur) (CCCP, 2002).

En noviembre de 2009 se realizó un crucero en el Pacífico Colombiano (Figuras 2-1 y 2-2), una cooperación entre la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Colombiano y la empresa pesquera Sepúlveda Rogers Cia. Ltda. Se recogieron muestras de dorados capturados en los sitios históricamente productivos, identificados por los frentes térmicos, frente a los departamentos de Chocó (norte del país), Valle del Cauca (centro) y Nariño (sur). Además, en los años de 2010 y 2011, pescadores artesanales – Los Amigos – enviaron muestras de Tumaco (Nariño), totalizando 26 estaciones de muestreo.

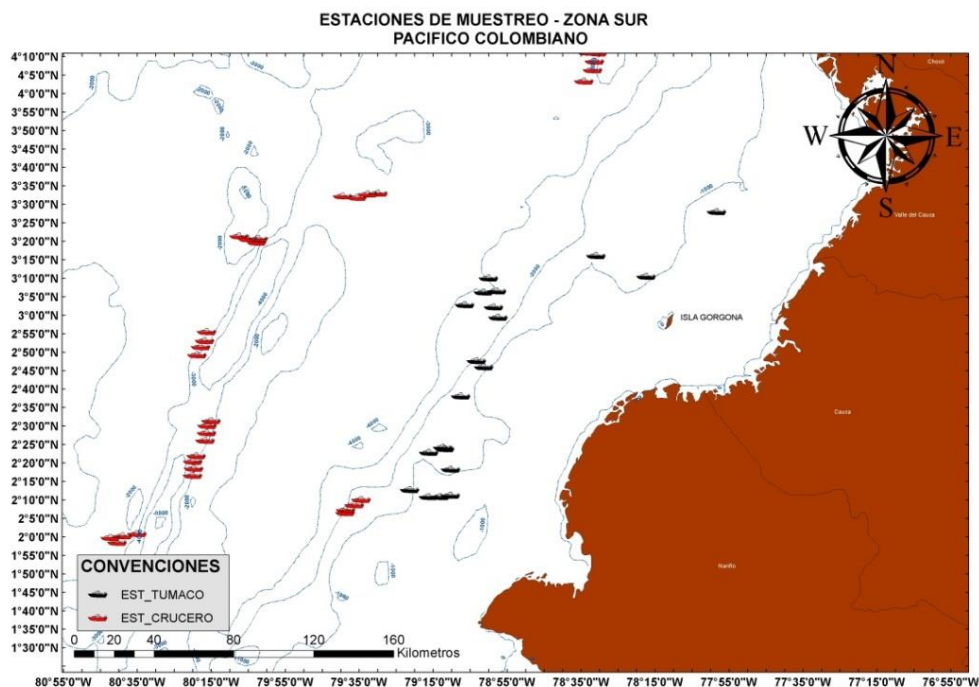
### **Metodología de campo**

Los peces fueron capturados utilizando una embarcación de tipo semi-industrial, el “Doña Rosario” (Chocó y Valle del Cauca) y otra artesanal, “Los Amigos” (Nariño), utilizándose el palangre de superficie o línea de anzuelos como arte de pesca. Para la estandarización del protocolo de extracción de ADN, fueron sacados aproximadamente 5 cm de la aleta dorsal y del músculo de 25 individuos adultos de dorado (Figura 2-3), preservados en alcohol etílico a 70%, en un tubo de 50 ml, etiquetados por sitio de captura y fecha y, mantenidos bajo refrigeración (4°C) hasta su análisis en laboratorio.

**Figura 2-1.** Sitios de muestreo del dorado (*C. hippurus*) en la Zona Económica Exclusiva (EEZ) del Pacífico Colombiano, frente a los departamentos de Chocó (norte del país) y Valle del Cauca (centro).



**Figura 2-2.** Sitios de muestreo del dorado (*C. hippurus*) en la Zona Económica Exclusiva (EEZ) del Pacífico Colombiano, frente a el departamento de Nariño (sur).



**Figura 2-3.** Ejemplares de dorado capturados durante el crucero en 2009 (Proyecto MADR2007T6605-353).



### **Metodología de laboratorio**

Los análisis genético-moleculares fueron realizados en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Las muestras de aleta dorsal fueron identificadas por un número seguido de la letra A, mientras las de músculos por M.

El ADN fue extraído a partir de la digestión de la aleta dorsal o del músculo, con proteinasa K. Se utilizó el kit de extracción de ADN para sangre y tejido animal DNeasy® Blood & Tissue, Quiagen. Luego, lo obtenido fue almacenado en tubos Ependorf de 1.5 ml en congelador a  $-8^{\circ}\text{C}$ , debidamente rotulados. La electroforesis del gel de agarosa a 0.8%, corrida en tampón TBE 0.5X (Tris-borato 0.045M; EDTA 0.001M) y teñida con  $1\mu\text{l}$  de bromuro de etidio.

La integridad del ADN fue visualizada sometiendo el gel a luz ultravioleta y fotografiándose el material obtenido. De acuerdo con la metodología sugerida por Valentim *et al.* (2003), la cuantificación del ADN (en  $\text{ng}/\mu\text{l}$ ) se hizo adicionándose en cada gel el ADN del bacteriófago Lambda en las concentraciones de 30, 45 y  $60\text{ ng}/\mu\text{l}$  y por comparación entre

la intensidad de las bandas visualizadas en el gel de agarosa de las muestras extraídas, con aquella observada en los patrones del ADN Lambda (Muñoz, 2011).

La calidad del ADN fue probada en las muestras de aletas, que presentaron los mejores resultados en cuanto a la cuantificación e integridad del ADN, a través de la reacción de las amplificaciones, utilizando la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Fueron utilizados cebadores específicos para el gen mitocondrial de la NADH deshidrogenasa subunidad 1(ND1) del dorado, con la secuencia 5'-TAATCCTGCCGCAATTATCC-3' y 5'-AGGCCTTCCAGGTTAGGTGT-3', publicada en el GenBank (AF272056) (Wingrove, 2000), con un producto esperado de 751 pb.

Los cebadores fueron inicialmente diluidos en las concentraciones recomendadas por el fabricante, para un volumen de 100 pmoles/ $\mu$ l y, después una segunda dilución para la PCR de 10  $\mu$ M/10 $\mu$ L. Las reacciones para la amplificación fueron realizadas en un volumen de 50 $\mu$ l, conteniendo de 10-100 ng de ADN. Las concentraciones de los reactivos de la PCR fueron: 5.0 $\mu$ l de buffer Taq, 5.0 $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub>, 4.0  $\mu$ l de dNTP, 0.5 $\mu$ l de cada cebador, 2 $\mu$ l de ADN, 32.8 $\mu$ l de H<sub>2</sub>O y 0.20  $\mu$ l de Taq polimerasa. Las condiciones de PCR fueron: 35 ciclos de 1 min a 94°C para desnaturalización, 1 min de 58°C para hibridación y una extensión final a 72°C por 1min. Los productos de la misma fueron visualizados en geles de agarosa al 1.0%. Los tamaños de los fragmentos en pares de bases (pb) fueron determinados con marcador molecular de 100pb.

### **Análisis estadístico**

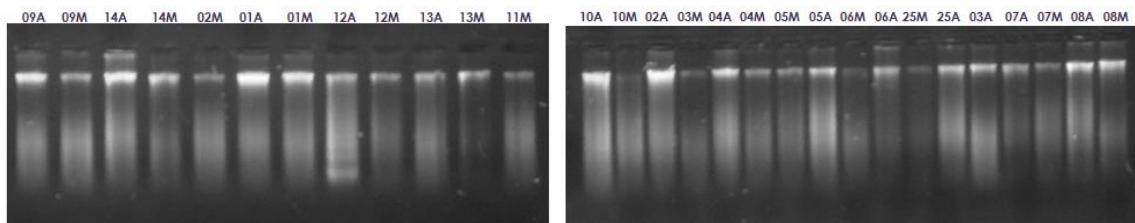
Para determinar si hubo diferencias entre los dos tipos de tejidos, músculo y aleta dorsal, en relación al contenido de ADN extraído, se aplicó una Prueba t para muestras independientes (músculo vs. aleta), con el software Statistica 12.0. El número de muestra fue 25 (N=25).

## **2.3 Resultados y Discusión**

En todas las muestras de aleta dorsal y músculos se obtuvieron bandas de ADN. Sin embargo, las muestras de aleta presentaron visualmente una mayor cantidad de ADN extraído, donde el promedio de concentración fue de 60 a 100 ng/ $\mu$ l (Figura 2-4), mientras

en el músculo fue de 10 a 40 ng/μl. Esta diferencia fue significativa ( $p \leq 0.05^*$ ), confirmada con la Prueba t (ANEXO B). Por lo tanto, el uso de las aletas mostró mejores resultados que el de músculos, para amplificaciones futuras de ADN, para estudios de variabilidad genética.

**Figura 2-4.** Análisis de la extracción de ADN, sin adicción de RNAsa, de los ejemplares de dorado en gel de agarosa a 0,8%. Muestras de aleta dorsal identificadas por un número seguido de la letra A, mientras la de músculos por M.



Parpinelli *et al.* (2009) analizaron tres protocolos de extracción de ADN (Fenol-cloroformo, NaCl y Bromuro de cetiltrimetilamónio - CTAB) en tres diferentes tipos de tejido de tilapia del Nilo (aleta caudal, músculo y branquias), concluyendo que los mejores resultados en cuanto a la concentración de ADN se presentaron con las branquias y las aletas. En peces “rei” (*Odontesthes bonariensis*), no se encontraron diferencias significativas entre la extracción en tejido de músculo y aleta caudal (García, 2010). Contrariamente, en el presente trabajo la proporción de ADN obtenido a partir de aletas del dorado representa de dos a tres veces más material, a través de la comparación con las bandas obtenidas, con la extracción del músculo.

De acuerdo con Alberts *et al.* (1994), frecuentemente las mitocondrias se encuentran ubicadas próximas a locales citoplasmáticos donde existe un gran consumo de energía (ATP). Como en el caso de los epitelios ciliados, ellas se acumulan cerca de los cilios o en los espermatozoides, alrededor de la porción inicial del flagelo, donde se inicia el movimiento flagelar. Por lo tanto, la mayor concentración de ADN mitocondrial encontrado en las aletas comparado con el músculo, puede ser el estar asociado al gran consumo de energía en esa región, encontrándose disponible una mayor cantidad de mitocondrias, principalmente en el caso de peces migratorios como el dorado.

Las muestras de tejidos acondicionadas en alcohol 70% y mantenidas bajo refrigeración (4°C) mantuvieron su calidad y buen estado de conservación del ADN después de largo tiempo de colecta (17-20 meses), haciendo posible estudios en el largo plazo.

Para los estudios moleculares es indispensable obtener ADN en buena cantidad y calidad (García, 2010). En todas las muestras se logró la amplificación en el test de PCR. En el presente estudio, el ADN extraído de todas las muestras de aletas lograron amplificación en el test de PCR, presentando bandas visibles entre 700 y 800pb, coincidiendo con los resultados esperados para un fragmento de 751pb (Figura 2-5). Por lo tanto, las muestras de aletas, además de presentar la cantidad de ADN requerido, también muestran la calidad necesaria para los estudios moleculares.

**Figura 2-5.** Fragmento de 751 pb del gen mitocondrial de la NADH deshidrogenasa subunidad 1 (ND1) de las muestras de aletas dorsales de dorado. Celda 1: marcador de peso molecular de 100 bp.



Además, la extracción de ADN de la aleta dorsal es una metodología no invasiva, lo que significa que no es necesario sacrificar y/o dañar el animal, dado que la cantidad requerida es mínima, facilitando la obtención de muestras para estudios biológicos, requisito de gran importancia para las evaluaciones genéticas. Así se evita tanto la pérdida del animal como el daño de sus tejidos, lo que dificultaría su posterior supervivencia al devolverlo al medio y/o comercialización por los pescadores.



## 2. 4 Conclusiones

La extracción de ADN de calidad de aleta dorsal de dorado (*Coryphaena hippurus* L.), metodología no invasiva, es una buena alternativa ambiental y socio-comercial, lo que puede favorecer la cooperación entre investigadores y pescadores, para tomar muestras genéticas sin sacrificar y/o no alterar el valor comercial de los peces.

La definición de una metodología adecuada de extracción de ADN ayudará en la toma de información para proyectos de estimación de la variabilidad genética a través de técnicas de biología molecular como la secuenciación. La estandarización de un método de extracción de ADN puede facilitar el trabajo de los genetistas, quienes necesitan tener herramientas rápidas y eficientes para contribuir a un mejor manejo de las pesquerías desde un enfoque conservacionista y sostenible.

En conjunto, toda esta información es importante para futuras investigaciones genéticas, contribuyendo al conocimiento de la estructura de las poblaciones y la conectividad marina, las cuales son importantes en el diseño e implementación de reservas marinas para la protección de especies amenazadas por la sobreexplotación y la degradación de hábitat.

### **3. Estructura genética poblacional del dorado (*Coryphaena hippurus* L.) en el Pacífico Colombiano**

### **Population genetic structure of dolphinfish (*Coryphaena hippurus* L.) in the Colombian Pacific**

#### **Resumen**

*Coryphaena hippurus* (dorado) es una especie pelágica altamente migratoria con distribución pantropical, importante ecológicamente y comercialmente para la región del Pacífico Colombiano. Todavía, la falta de información regional no permite sustentar científicamente el estado actual de manejo del recurso en el país. En el contexto de una evaluación del stock, la distribución, migración y su estructura genética pueden contribuir en la definición de las unidades de manejo. Como otros peces pelágicos, presentan algunas características de vida como la alta movilidad, gran tamaño poblacional y alta capacidad reproductiva, que pueden limitar la diferenciación genética entre poblaciones, haciendo suponer una homogeneidad genética a lo largo de su rango geográfico a distintas escalas espaciales. Sin embargo, aspectos contemporáneos (por ejemplo dinámica de las corrientes oceanográficas) como históricos (períodos glaciares), pueden generar subpoblaciones discretas a lo largo de su distribución, sugiriéndose un manejo diferenciado al recurso disponible. En este estudio analizamos la estructura genética poblacional del *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano, utilizando una región parcial del ADN mitocondrial subunidad NADH dehidrogenasa 1 (ND1). Los análisis de las secuencias revelan una diferencia significativa entre las muestras colectadas en distintos sitios (Chocó, Valle del Cauca y Nariño). Se sugiere que existe un patrón de diferenciación por distancia geográfica, reflejo que las poblaciones del Pacífico Colombiano presentan estructura genética, a pesar de su relativa cercanía.

---

**Palabras clave:** *Coryphaena hippurus*, ADN mitocondrial, ND1, diferenciación genética

## **Abstract**

*Coryphaena hippurus* (dolphinfish) is a highly migratory pelagic species with pantropical distribution, ecologically and commercially important to the Colombian Pacific region. The lack of regional information cannot scientifically support the current state of resource management in the country. In the context the stock assessment, distribution, migration and genetic structure can help in defining management strategies. Like others pelagic fish, some characteristics like highly migratory, large population size and high reproductive capacity, which can limit genetic differentiation among populations, leads to assume genetic homogeneity throughout its geographic range at different spatial scales. However, contemporary aspects (eg. dynamic oceanographic currents) and historical (glacial periods) can generate discrete subpopulations along distribution, suggesting different handling to the available resource. In this study we analyzed the population genetic structure of *C. hippurus* in the Colombian Pacific using a partial region of the mtDNA NADH dehydrogenase subunit1 (ND1). The sequence analysis revealed a significant difference between the samples collected at different sites (Chocó, Valle del Cauca and Tumaco). It suggests a differentiation pattern due to geographical distance, reflecting that the Colombian Pacific populations exhibit genetic structure, despite their relative proximity.

Key words: *Coryphaena hippurus*, mtDNA, ND1, genetic differentiation.

## **3.1 Introducción**

A pesar de los avances en las discusiones acerca de medidas de protección y recuperación de la ictiofauna, el estado actual del conocimiento acerca de las posibles diferenciaciones genéticas poblacionales en peces, está lejos de generar un cuadro real, que sirva como herramienta en los programas de monitoreo de poblaciones (Hilsdorf *et al.*, 2006). La inexistencia de estudios acerca de la estructura genética de muchas especies o la insipiente de datos para determinadas regiones, dificultan las acciones de manejo y conservación del recurso pesquero, como es el caso del dorado para la región del Pacífico Colombiano.

Además, por ser una especie migratoria, el monitoreo de las poblaciones del dorado se hace importante para ordenar sus pesquerías. Los esfuerzos de un solo país no son suficientes para el ordenamiento de un recurso compartido y es necesario comenzar a buscar alternativas que homologuen o establezcan medidas de manejo y administración entre todos los que acceden al mismo. Estas deben ser consecuentes con su dinámica poblacional y su aprovechamiento en cada lugar, teniendo en cuenta no solamente estos aspectos, sino también el social, económico, político e institucional (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Por ende, se hace necesario el conocimiento sobre la distribución genética de esas poblaciones y de las posibles relaciones entre la dinámica oceanográfica, alteración del hábitat, pérdida de variabilidad genética y subdivisión de stocks. Por lo tanto, los estudios de diversidad genética de poblaciones marinas son importantes herramientas para establecer programas de conservación, garantizando el uso sostenible del recurso, como parte de una estrategia de desarrollo económico y seguridad alimentaria.

El uso de herramientas moleculares para estudiar las especies marinas ha mostrado que tanto la variabilidad genética como la estructura poblacional están influenciadas por diferentes escalas de tiempo (Palumbi, 2004). Procesos como las discontinuidades oceanográficas, permanentes o semipermanentes, están entre los principales factores que definen la estructura genética de las especies (Ayre *et al.*, 2009; Galarza *et al.*, 2009a; Mokhtar-Jamaï *et al.*, 2011; Palero *et al.*, 2011; Schunter *et al.*, 2011b). Así mismo, la distribución de los niveles de diversidad genética ha sido relacionada con sucesos pasados (p.e. las glaciaciones del Pleistoceno) que condicionan la evolución y distribución actual de las especies (Hewitt, 2000; Maggs *et al.*, 2008).

Las características del ADN mitocondrial (ADNmit), tales como herencia materna, genoma haploide, ausencia de recombinación, sensibilidad a los efectos de la deriva genética y alta tasa evolutiva, hacen de este genoma una excelente fuente de información genética para los estudios dirigidos a la taxonomía y conservación de los diversos organismos (Marques, 2002). Por lo tanto el ADN mitocondrial ha sido el principal marcador utilizado para evaluar tanto eventos pasados como para describir un panorama general del flujo genético entre las poblaciones (Awise, 2000; Reece *et al.*, 2010).

---

Entre los genes que codifican proteínas mitocondriales, el ND1 (Nicotinamida Dehidrogenasa subunidad 1) es uno de los que poseen mayores tasas de evolución molecular (López, 1997). Las subunidades de la Nicotinamida Dehidrogenasa (ND1, 2, 5 y 6), han sido exitosamente utilizadas para elucidar relaciones filogenéticas y la estructura poblacional en especies de peces pelágicos como las macarelas y anchovetas, así como de otros teleósteos marinos y dulceacuícolas (Díaz-Jaimes *et al.*, 2006).

El dorado (*Coryphaena hippurus* L.) también conocido como dolphinfish, mahi-mahi, perico o llampuga es una especie pelágica altamente migratoria con distribución pantropical, encontrada entre 46°N y 38°S (Palko *et al.*, 1982; Norton, 1999). En el Pacífico Oriental se distribuye desde San Diego – California (Estados Unidos) hasta Antofagasta (Chile), estando aparentemente restringida a la isoterma de los 20°C (Oxenford, 1999) y a profundidades de 85 m (Palko *et al.*, 1982; CNDM, 2008). Es capturado en aguas oceánicas, costeras y estuarinas, tanto en la pesca deportiva, como artesanal e industrial (MADR, 2009). La estacionalidad de la captura y las fluctuaciones en la distribución regional son consecuencias del comportamiento migratorio de la especie, observado en diversas regiones del mundo, como en el Pacífico Central (Hawai) (Kraul, 1999), el Pacífico Oriental (Lasso y Zapata, 1999), el Atlántico Occidental y el Caribe (Arocha *et al.*, 1999; Rivera y Appeldoorn, 2000), y en el Mediterráneo (Massutí y Morales-Nin, 1995).

Estudios de marcado y recaptura han mostrado el gran potencial de dispersión de hasta 440 km durante su vida (Beardsley, 1967; Kingsford y Defries, 1999; Farrel y Halpin, 2009). Estos estudios han mostrado también que la especie exhibe rangos hogareños limitados, ya que la mayoría de los individuos fueron recapturados alrededor de los mismos objetos flotantes donde fueron originalmente marcados (Kingsford y Defries, 1999).

Los rangos hogareños restringidos y los pulsos demográficos temporal y espacialmente encontrados pueden favorecer la existencia de una estructura poblacional en stocks diferenciados y de heterogeneidad genética (Rocha-Olivares *et al.*, 2006; Bobadilla-Jiménez, 2007). Por lo tanto, la presencia de una población definida para una especie que tiene distribución pantropical como el dorado, está siendo cuestionada. En el Pacífico Mexicano, se registra la presencia de diferentes subpoblaciones ocupando regiones muy

cercanas en algunos periodos (Madrid y Beltrán-Pimienta, 2001; Bobadilla-Jiménez, 2007), lo que hace suponer una variación en la estructura genética de la especie. La existencia de factores especie-específicos o regionales, como la dinámica oceanográfica, pueden limitar su conectividad y el flujo genético. Si el ambiente limita el desplazamiento de la especie, podrían existir subpoblaciones discretas a lo largo de la distribución, sugiriendo un manejo diferenciado al recurso disponible (Bobadilla-Jiménez, 2007; Hauser y Carvalho, 2008).

De esta forma, el objetivo de este capítulo fue identificar la estructura genética poblacional y los niveles de variabilidad genética del dorado en el Pacífico Colombiano, a través del estudio de la secuencia parcial del gen mitocondrial NADH dehidrogenasa subunidad1 (ND1), con amplificación por PCR.

## 3.2 Materiales y Métodos

### Metodología de campo

Para los análisis genético-moleculares, fueron sacados aproximadamente 5 cm de la aleta dorsal de 150 individuos (machos y hembras) capturados en tres diferentes sitios, en la altura de los departamentos del Chocó, Valle del Cauca (Figura 2-1) y Nariño (Figura 2-2), en el Pacífico Colombiano. Esas muestras fueron preservadas en alcohol etílico a 70%, en un tubo de 50 ml, identificadas por sitio de captura, fecha y sexo y mantenidas bajo refrigeración (4°C) hasta su análisis en laboratorio.

### Metodología de laboratorio

Los análisis genético-moleculares fueron realizados en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Las muestras fueron numeradas, separadas por sexo y por ubicación.

El ADN fue extraído a partir de la digestión de la aleta dorsal de los 150 individuos, con proteinasa K. Se utilizó el kit de extracción de ADN para sangre y tejido animal DNeasy® Blood y Tissue, Qiagen. El protocolo de extracción de ADN se presenta en el Anexo 1. Después de la extracción, el ADN fue almacenado en tubos Ependorf de 1,5 ml, en congelador a -8°C, debidamente identificados. Se adicionó RNAsa a un volumen de 1 µl y se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 0,8%, corridos en tampón TBE 0.5X (Tris-borato 0.045M; EDTA 0.001M), con tinción por bromuro de etidio 1 µl.

La integridad del ADN fue visualizada sometiendo el gel a luz ultravioleta y fotografiándose el material obtenido. La cuantificación del ADN se hizo adicionándose en cada gel el ADN del Bacteriófago Lambda en concentraciones de 30, 45 y 60ng/µl y comparándolas con las bandas obtenidas en las muestras (Muñoz, 2011). La calidad del ADN fue probada a través de la reacción de amplificación, utilizando la técnica de PCR.

Con base en las investigaciones de referencia (Rocha-Olivares *et al.*, 2006; Diaz-Jaimes *et al.*, 2006) se utilizó el gen mitocondrial NADH dehidrogenasa subunidad 1 (ND1) del dorado (número de acceso GenBank AF272056), de 1400 pb, para la creación de los

cebadores (Tabla 3-1) que posteriormente fueron empleados en técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

**Tabla 3-1.** Cebadores utilizados en la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el dorado (Wingrove, 2000).

Cebador	Secuencia	Tamaño del fragmento
L3324	5'GCTCTACGTGATCTGAGTTCAG3'	1400 pb
H4716	5'TACATGTTTGGGGTATGGGC3'	1400 pb

Estos cebadores fueron inicialmente diluidos en las concentraciones recomendadas por el fabricante, para un volumen de 100 pmoles/ $\mu$ l y después una segunda dilución para la PCR de 10  $\mu$ M/10 $\mu$ l.

Las reacciones para la amplificación fueron realizadas en un volumen de 50 $\mu$ l que contienen de 10-100ng de DNA. Las concentraciones de los reactivos de la PCR fueron: 5.0 $\mu$ l de buffer Taq, 5.0 $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub>, 4.0  $\mu$ l de dNTP, 0.5 $\mu$ l de cada primer (cebador), 2 $\mu$ l de ADN, 32.8 $\mu$ l de H<sub>2</sub>O y 0.20  $\mu$ l de Taq polimerasa. Las condiciones de PCR fueron: 35 ciclos de 55 seg a 95°C para desnaturalización, 45 seg de 50°C para hibridación y una extensión final a 72°C por 1.5min. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1.0%. Los tamaños de los fragmentos en pares de bases (pb) fueron determinados con marcador molecular de 100pb.

Los productos de PCR se enviaron para purificación y secuenciación a MACROGEN Inc., Korea, donde se usó un secuenciador automático ABI 3730xl (Applied Biosystems), utilizando las condiciones del Kit BigDye Terminador.

## Análisis bioinformático

### 1. Estimaciones de diversidad y diferenciación genética

Las secuencias fueron analizadas visualmente, editadas con ChromasPro y DNAMAN y alineadas usando ClustalW v1.81 (Thompson *et al.*, 1997) del programa Mega v5. Para la identificación de bloques no informativos y regiones divergentes del alineamiento, se utilizó



el programa Gblock 0.91 (Castresana, 2000). Cada una de las secuencias fueron revisadas en la base de datos de NCBI (National Center for Biotechnology Information - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) usando el algoritmo BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) para estimar el score (puntuación) y confirmar la especie en estudio.

La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), la diversidad haplotípica ( $h$ ) y sus desviaciones estándar fueron calculadas para cada sitio del Pacífico Colombiano, usando el programa DnaSP v5 (Librado y Rozas, 2009). La red de los haplotipos fue construida usando el algoritmo "Median Joining network" (Bandelt et al., 1999), implementado en el programa Network v.4.6.1.0 (Fluxus Technology). La red ilustra relaciones entre haplotipos y permite examinar la partición geográfica de los datos. La selección del grupo externo (Outgroup) fue basada en similitud de secuencias a través de la opción de búsqueda BLAST en GenBank. Por lo tanto, fue utilizada una secuencia disponible en GenBank (número de acceso GenBank AF272056) de *Coryphaena hippurus* del Océano Atlántico.

La diferenciación genética entre los sitios muestreados fue estimada midiendo los valores de GammaST y su significancia calculada usando el estadístico Snn implementado en el programa DnaSP (Hudson, 2000).

Se realizó un Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC), que es un análisis multivariado que permite identificar y describir grupos de individuos genéticamente relacionados (Jombart *et al.*, 2010). Primero, los datos se transforman a componentes no correlacionados, conteniendo la mayoría de información genética a través del uso de un Análisis de Componentes Principales (PCA). Estos componentes se someten a un Análisis Discriminante (DA), que minimiza la varianza genética dentro de las poblaciones mientras que maximiza la variación entre poblaciones, aportando de esta manera una mejor discriminación de los grupos genéticos predefinidos. Este método es sensible como los programas basados en agrupamiento bayesiano (Jombart *et al.*, 2010), pero con la ventaja que no requiere grandes cantidades de tiempo computacional.

El PCA se hizo en R v. 2.15.2 (R Development Core Team, 2008), utilizando la función `dapc` en el paquete de R `Adegenet`, con las secuencias de los individuos analizados y con la secuencia de *Coryphaena hippurus* L. del Atlántico (número de acceso GenBank

AF272056 - Wingrove, 2000), considerada como *Outgroup*. En el presente estudio se consideraron 45 PCs, conteniendo las 127 secuencias de los individuos. Los tres sitios de muestreo – Chocó, Valle y Nariño – y el *Outgroup* – fueron usados *a priori* para la asignación de los genotipos (Anexo 3). Las funciones discriminantes y los genotipos de *C. hippurus* fueron visualizados como diagramas creados con la función `scatter.dapc` y `complot` (Jombart, 2008; Jombart *et al.*, 2010).

## 2. Pruebas de neutralidad, inferencias demográficas y tiempos de coalescencia

Para probar los patrones que se desvían de la neutralidad, los estimadores  $F_s$  de Fu (1997) y  $D$  de Tajima (1989) fueron calculados usando el DnaSP v5 (Librado y Rozas, 2009). El tiempo de coalescencia de los haplotipos fue inferido de las diferencias de sitios nucleotídicos por pares de poblaciones (*Mismatch distribution*) para la especie asumiendo el modelo de “expansión repentina” y la ecuación:  $t = \tau/2\mu k$ , donde  $\tau$  (Tau) es la medida del valor estimado en unidades de tiempo mutacional,  $k$  es la longitud de la secuencia y  $\mu$  es la tasa de mutación por nucleótido (Rogers y Harpending, 1992). De acuerdo a Rogers (1995), se asumió un valor infinito de theta final (theta después de un crecimiento poblacional) con el fin de estimar el valor de theta inicial y el valor de Tau de los datos. Se utilizó la tasa de sustitución ( $\mu_S$ ) estimada de 1.2% por nucleótido para la región del ADNmt-ND2 teleósteos marinos (Bermingham *et al.*, 1997). Debido a que la tasa de sustitución ( $\mu_S$ ) representa un valor bajo en relación a la tasa de mutación dentro de las especies, se siguió una aproximación más conservativa de acuerdo a Emerson (2007). Así, una tasa de mutación intraespecífica ( $\mu_1$ ) tres veces más rápida que la tasa de sustitución (Howell *et al.*, 2003) fue también utilizada para datar el tiempo de coalescencia.

## 3.3 Resultados y Discusión

De los 150 individuos de *C. hippurus* colectados, 127 presentaron una buena amplificación, los cuales fueron analizados para un fragmento de 858 pb del gen mitocondrial NADH dehidrogenasa 1 (ND1). Se detectaron 84 haplotipos y 238 posiciones polimórficas (Tabla 3-2). Los niveles de diversidad genética variaron a través de los tres grupos de muestras, Chocó, Valle del Cauca y Nariño. Así, la diversidad haplotípica ( $h$ ) fue alta, siendo de

0.9756 para el Chocó, 0.9667 para el Valle del Cauca y 0.9891 para Nariño, mientras la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) fue relativamente baja, respectivamente de 0.0081, 0.0106 y 0.0406. Sin embargo, hay que considerar que la información es del ADN mitocondrial, por lo que es consistente. La alta diversidad haplotípica está reflejada por el número de haplotipos ( $nh$ ) encontrados, en relación con el número total de individuos ( $N$ ) evaluados por grupo de muestras, 55/82 para el Chocó, 17/21 para el Valle del Cauca y 22/24 para Nariño (Tabla 3-2). Por lo tanto, se observa un alto polimorfismo de un solo nucleótido.

**Tabla 3-2.** Datos de las muestras de *Coryphaena hippurus* analizadas y sus niveles de diversidad genética mitocondrial (ND1) para el Pacífico Colombiano.

Sitios	$N$	$Nh$	$h$	$\pi$
Chocó	82	55	0.9756	0.0081
Valle del Cauca	21	17	0.9667	0.0106
Nariño	24	22	0.9891	0.0406
Total	127	84	0.9790	0.0161

$N$  = número de muestras,  $Nh$  = número de haplotipos,  $h$  = diversidad haplotípica,  $\pi$  = diversidad nucleotídica.

El número de haplotipos encontrados en una especie y su grado de complementariedad inter e intra-poblacional muestran aspectos del comportamiento y cohesión genética entre poblaciones naturales, que son adquiridos a través de las relaciones entre las fuerzas evolutivas y biológicas del grupo a lo largo del tiempo y espacio y que determinan, de alguna manera la variabilidad genética encontrada. Esta variabilidad es el componente bajo el cual actúa la selección natural, continuamente creado por la mutación y al mismo tiempo modificado por la selección y la deriva (Lowe *et al.*, 2004). En el presente estudio, la más baja diversidad haplotípica e intermedia diversidad nucleotídica en Valle del Cauca puede estar indicando que este grupo presenta menor variabilidad por estar menos adaptado para afrontar los cambios ambientales y/o la presión de explotación.

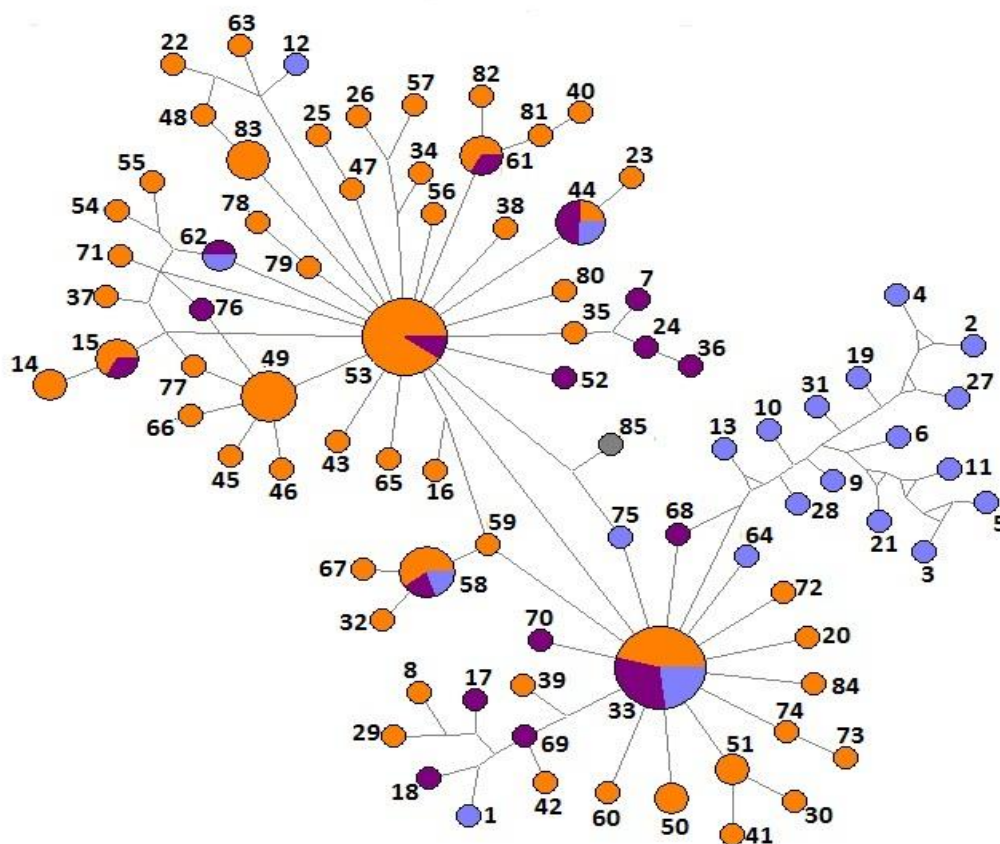
Considerando como bajos los índices de diversidad  $<0.5$  y como altos los índices  $\geq 0.5$ , de acuerdo con Avise (2000), fue verificado un patrón característico de poblaciones que tuvieron rápido crecimiento oriundo de una población ancestral pequeña. Se supone aun, que ha existido tiempo suficiente para recuperar la diversidad haplotípica por mutación y migración; sin embargo es probable que el tiempo haya sido demasíadamente corto para acumular grandes diferencias en las secuencias analizadas (Avise, 2000).

Los resultados de los análisis empleando el ADN mitocondrial, en el presente trabajo, son similares a los registrados por Díaz-Jaimes *et al.* (2006) en el Pacífico Mexicano, Sánchez-Izquierdo *et al.* (2008) y por Díaz-Jaimes *et al.* (2010) para los océanos Índico, Pacífico, Atlántico y Mar Mediterráneo, para la misma especie. Además, la baja diversidad de nucleótidos del ADN mitocondrial y genealogías poco profundas también aparecen en muchos peces pelágicos, incluyendo picudos y otras especies cosmopolitas, como el cazón picudo antillano (*Rhizoprionodon porosus*) y el cazón picudo brasileño (*Rhizoprionodon lalandii*) (Mendonça, 2007), tiburón martillo (*Sphyrna lewini*) (Castillo-Olguín *et al.*, 2012), tiburón sedoso (*Carcharhinus falciformis*) (Galván-Tirado *et al.*, 2013), huachinango (*Lutjanus peru*) (Rocha-Olivares & Sandoval-Castillo, 2003) y haruan (*Channa striatus*) (Rahim *et al.*, 2012), pudiendo estar la diversidad genética encontrada asociada con episodios glaciales (Díaz-Jaimes *et al.*, 2006).

La baja diversidad nucleotídica encontrada en el presente estudio refleja el predominio de uno o pocos haplotipos y numerosos haplotipos de baja frecuencia separados por pocas mutaciones, representado por la red de haplotipos (Figura 3.1). Este patrón puede estar asociado con una reducción del hábitat o con “cuellos de botella” de la población, debido a la sobreexplotación, cambios en las variables ambientales, efectos fundadores, aunque también podrían ser el resultado de bajas tasas de mutación específicas de linaje o selección natural (Roman, 2006).

La red de haplotipos (Figura 3-1) ilustra la distribución geográfica de los haplotipos, denotando el flujo génico entre las regiones muestreadas. Se encontraron dos haplotipos mayoritarios distribuidos ampliamente (Chip33 y Chip53) y varios haplotipos privados (haplotipos encontrados en un solo sitio) derivados, la mayoría de estos siendo únicos (presentes únicamente en un individuo) y separados por uno a tres pasos mutacionales. Los dos haplotipos mayoritarios presentaron clinas de frecuencias en direcciones geográficas opuestas. Así, el haplotipo Chip33 estuvo presente en todas las áreas del muestreo (Chocó, Valle y Nariño), mientras que el haplotipo Chip53 estuvo restringido apenas a las áreas del Chocó y Valle.

**Figura 3-1.** Red de haplotipos de secuencias de ADN mitocondrial (ND1) construidas mediante el método “Median Joining Network” para *Coryphaena hippurus*. Los tamaños de los círculos dentro de cada red son proporcionales a su frecuencia. Los sitios de muestreo están codificados con colores: Chocó (naranja), Valle del Cauca (morado) y Nariño (azul), y además el *Outgroup* (Atlántico) en gris.



Por la presencia en todas las áreas del muestreo probablemente el haplotipo Chip33 esté asociado al ancestro común más reciente (ACMR), que dio origen a los demás haplotipos en el proceso de expansión sufrido por la especie en el Pacífico Colombiano, en concordancia con la estructura en estrella de la red de haplotipos y también con la más alta diversidad haplotípica encontrada en esta. Esto concuerda con lo expuesto por Kingman (1982), donde los haplotipos de ADN mitocondrial (o que cualquier gen nuclear) eventualmente coalescen hacia el ACMR.

Sin embargo, el haplotipo Chip53 se encuentra presente apenas en el Chocó y Valle del Cauca, sugiriéndose que fue generado después del proceso de expansión y que estas regiones fueron colonizadas más recientemente en comparación con Nariño, quizás por presentar características oceanográficas distintas de las demás, en especial la Temperatura Superficial del Mar y los niveles de clorofila-a, las cuales influyen en los procesos fisiológicos y reproductivos de la especie y, en la disponibilidad de alimento para la especie. A su vez, estas características están bajo interferencia de las corrientes superficiales marinas.

Los haplotipos privados, a ejemplo el 3, 5, 11, 30 y 41, entre otros, presentan una clara separación entre los sitios de muestreo, donde los haplotipos presentes en el Chocó son separados por uno o dos pasos mutacionales de los del Valle del Cauca y, los haplotipos de Nariño se encuentran a tres o cuatro pasos de los demás, o no poseen ninguna relación directa. Los haplotipos de Nariño se muestran más alejados en la red, formando una rama separada de los demás, como los haplotipos 2, 3, 4, 5 y demás (Figura 3-1).

Esta separación podría ser debido a diferencias en las características oceanográficas existentes anteriormente mencionadas entre esas regiones de la Cuenca Pacífica Colombiana, generando discontinuidades entre las zonas donde se dispersa la especie. Las diferencias entre las condiciones de los ambientes locales podrían generar un proceso de variación adaptativa con patrones de variabilidad fenotípica, ya sea por selección en *loci* determinados o por plasticidad fenotípica (Brian *et al.*, 2006). Así, además de factores ambientales, pudo haber contribuido para la diferenciación dentro y entre estos grupos eventos de deriva genética, mutación, migración, entre otros.

Los valores de  $\Gamma_{ST}$ , para todo el Pacífico Colombiano ( $\Gamma_{ST} = 0.113$ ,  $P < 0.001$ ) como para cada sitio fueron significativos, revelando alta diferenciación genética entre las poblaciones dentro del área de estudio. Los valores de  $\Gamma_{ST}$  fluctuaron desde 0.01389 para Valle del Cauca vs. Chocó hasta 0.11832 para el Nariño vs. Chocó (Tabla 3-3). Los análisis por pares de poblaciones revelaron un mayor distanciamiento genético existente entre los individuos de las localidades de Nariño y Chocó y, menor entre los individuos del Chocó y Valle del Cauca. A su vez, el valor para Nariño vs. Valle del Cauca es intermedio.

**Tabla 3-3.** Valores de distancias genéticas  $\Gamma_{ST}$  para el ADN mitocondrial (ND1) entre pares de poblaciones *Coryphaena hippurus*.

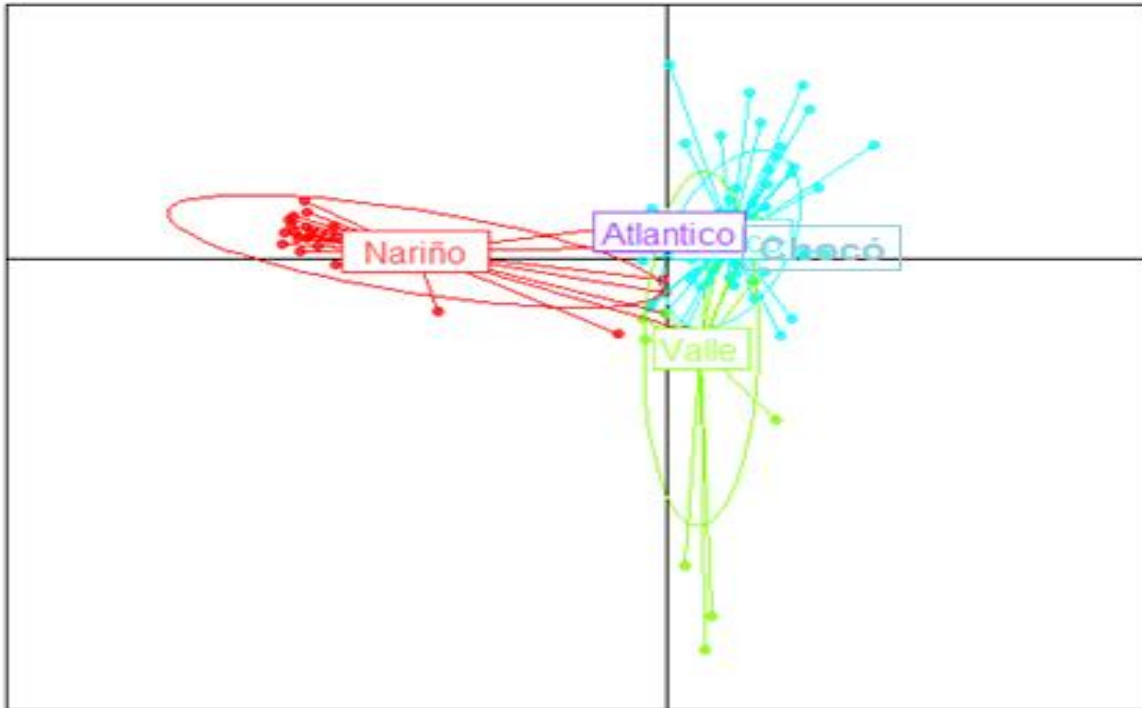
	Chocó	Valle del Cauca	Nariño
Chocó	0		
Valle del Cauca	0.01389	0	
Nariño	0.11832	0.09393	0

Ese patrón puede estar relacionado con un menor flujo génico entre las poblaciones de Nariño y Chocó debido a su distanciamiento geográfico y, de mayor conectividad entre las localidades de Chocó y Valle del Cauca. Estos datos son consistentes con el análisis anterior, donde el haplotipo Chip33 está presente en los tres sitios de muestreo (Nariño, Valle del Cauca y Chocó), mientras el Chip53 solamente en el Chocó y el Valle del Cauca (Figura 3-1). Otros estudios con el gen mitocondrial NADH1 de *C. hippurus* también presentaron niveles de estructura genética significativos ( $\Phi_{ST} = 0.029$ ,  $P = 0.004$ ), indicando heterogeneidad genética de la especie a pequeñas escalas geográficas (Rocha-Olivares *et al.*, 2006; Bobadilla-Jiménez, 2007; Rosales-Morales, 2007). La diferenciación genética observada, en el presente, posiblemente esté bajo influencia de los cambios históricos (glaciaciones) y contemporáneos (El Niño) sobre la Temperatura Superficial del Mar (TSM), variable de gran importancia en la dispersión de la especie.

La correlación existente entre la diferenciación genética por el distanciamiento geográfico también puede ser observada en el DAPC (Figura 3-2 y 3-3). Se detectó una clara separación entre los sitios de muestreo de Nariño (eje X) con los demás – Chocó, Valle y Atlántico (*Outgroup*), observándose una mayor diferenciación en Nariño y una mayor superposición de los sitios de Chocó, Valle del Cauca y Atlántico (*Outgroup*). El *Outgroup* fue tomado del GenBank (en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, Wingrove *et al.*, 2000), para referencia y comparación, ya que por primera vez se presentan los datos de secuenciación del dorado para el Pacífico Colombiano.

**Figura 3-2.** Representación gráfica del análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de haplotipos de *Coryphaena hippurus* del ADN mitocondrial (ND1) utilizando las localidades de Nariño, Valle del Cauca y Chocó, para definir los grupos genéticos y con la inclusión del *Outgroup* (Atlántico). Los genotipos se representan como puntos, y los grupos genéticos son representados

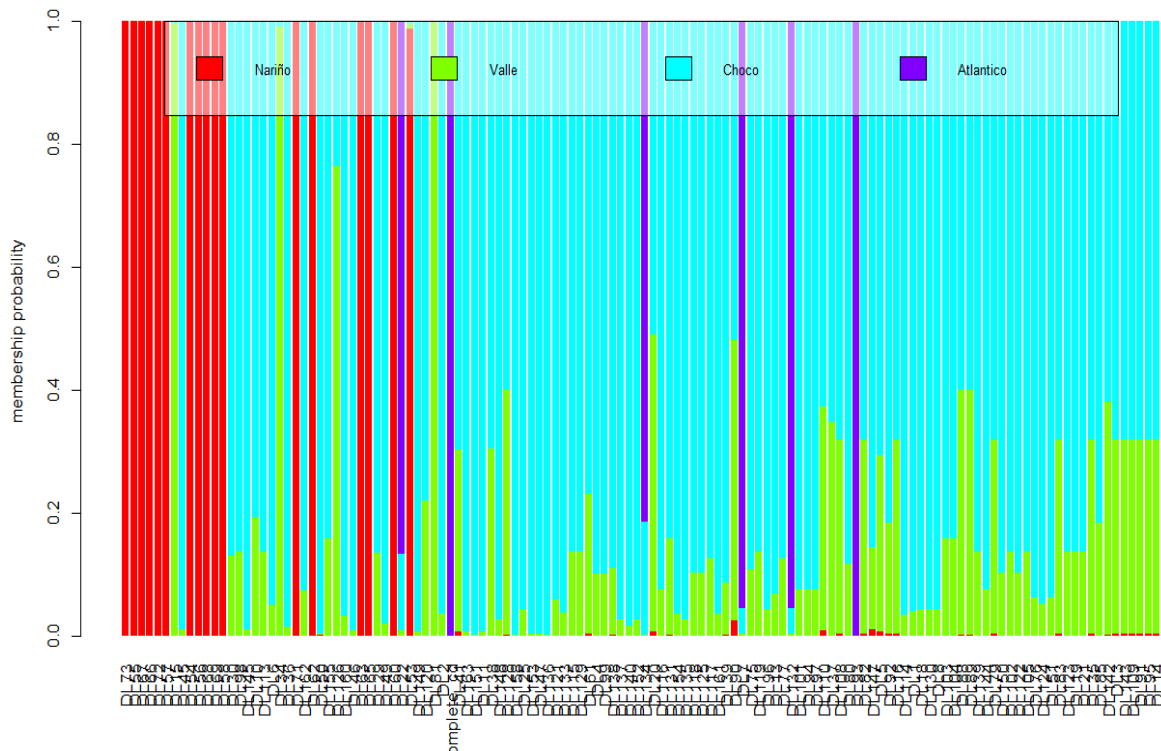
por elipses que definen las agrupaciones al 95%. Los valores de Eigenvalues muestran la cantidad de la información genética contenida en cada componente principal. Los ejes X e Y corresponden a los dos primeros componentes principales respectivamente.



El análisis discriminante de componentes principales por individuo de *Coryphaena hippurus* para el ADN mitocondrial (gen ND1) en los sitios de muestreo en el Pacífico Colombiano e incluyendo el *Outgroup* (Atlántico), muestra una vez más, la mayor cercanía entre Valle del Cauca con Chocó y de estos con el Atlántico, y el Valle del Cauca en posición intermedia entre Nariño y el Chocó. Es posible que las condiciones ambientales presentadas por el sitio Nariño sean muy particulares, cuando son comparadas con las encontradas en los otros dos sitios en el Pacífico Colombiano y el Atlántico (*Outgroup*).

**Figura 3-3.** Análisis discriminante de componentes principales (DAPC) por individuo (representados por la inicial DL, seguido por un número de identificación = DL73) de *Coryphaena hippurus* para el ADN mitocondrial (gen ND1) y sitios de muestreo en el Pacífico Colombiano y *Outgroup* - Atlántico.





Bajo neutralidad, a lo largo de las generaciones en una población de tamaño constante, nuevos alelos surgen de forma permanente por mutación mientras otros se pierden por deriva génica, de tal modo que todos los alelos de un gen en una generación derivan de (o coalescen hacia) un único alelo ancestral. Como la mayoría de las mutaciones ocurren en un único punto en el tiempo y el espacio, es posible inferir de eventos pasados así como la propagación de cada nueva mutación (alelo) es afectada por patrones de dispersión, tamaño poblacional, selección natural y otros procesos que pueden deducirse a partir de la distribución actual de estas mutaciones (Freeland, 2005).

En concordancia con la estructura en estrella de la red de haplotipos del dorado en el Pacífico Colombiano (Figura 3-1), la prueba  $F_s$  de  $F_u$  arrojó valores negativos y significativos, lo cual es indicativo de desviaciones de la esperanza bajo neutralidad que pueden ser debidas a procesos recientes de expansión o selección (Wares, 2010) (Tabla 3-4).

**Tabla 3-4.** Prueba de neutralidad y tiempos de coalescencia de *Coryphaena hippurus* para el ADN mitocondrial (ND1) en el Pacífico Colombiano.

Sitios	$F_s$ de $F_u$	D	Tau	Tiempo de coalescencia	
				$\mu_{1(x3)}$	$\mu_s$

Chocó	-5.36557**	-2.60893***	0.426	22.595	7.532
Valle del Cauca	-3.18340**	-2.22921**	0.670	35.536	11.845
Nariño	-1.62563ns	-1.05110ns	16.015	849.422	283.141
Total	-5.24279**	-2.37645**			

Test Fs de Fu:  $P < 0.02$ ; Tajima's D:  $P < 0.01$ ; Tasa de mutación = 1.2% para el gen mitocondrial ND2 para dorado.

Los tiempos de coalescencia fueron estimados a partir de Tau usando  $\mu$  (tasa de substitución para el gen ND2 para *Coryphaena hippurus* de 1,2% de divergencia/millón de años) y  $\mu_1$  (asumiendo que la tasa de mutación es tres veces la tasa de substitución, de acuerdo a Emerson (2007)). Asumiendo el modelo de expansión súbita de Rogers y Harpending (1992) se dataron los tiempos de coalescencia de los haplotipos y en consecuencia, se relacionaron los niveles de diversidad genética y los procesos históricos.

Las poblaciones de Chocó y Valle del Cauca presentaron un tiempo de coalescencia más reciente, sugiriéndose el proceso de colonización reciente y/o efecto fundador en esas regiones. Sin embargo, Nariño presenta un mayor tiempo de coalescencia (849.422 años), comparada con las demás, posiblemente por ser la población asociada con el ACMR en el Pacífico Colombiano, dando origen a las demás. Utilizando las secuencias de dorado (*C. hippurus*) del mismo gen (ND1) en Ecuador, fue encontrado un tiempo de coalescencia de 162.000 años (Díaz-Jaimes *et al.*, 2010). Por lo tanto, es posible que la región de Nariño, cercana geográficamente a Ecuador, sea la población que también pueda tener dado origen a la población de Ecuador.

Cuando se usó una tasa de mutación intraespecífica ( $\mu_1$ ) tres veces más rápida que la tasa de substitución, las estimaciones para los sitios de Chocó (22.595 años) y Valle del Cauca (35.536 años) fueron ubicadas entre el último período glacial (LGM, de sus siglas en inglés *Last Glacial Maximum*), que ocurrió entre 20.000 a 30.000 años. Las estimaciones del tiempo encontradas podrían estar asociadas a cambios climáticos abruptos ocurridos durante el Pleistoceno tardío y el Holoceno (Cacho *et al.*, 2002; Frigola *et al.*, 2007). Durante el último máximo glacial (30-20 *Kya*) el nivel del mar decreció cerca de 120 m (Lambeck & Chapell, 2001), aunque se considera que no hubo cambios significativos en los procesos oceanográficos globales sucedidos en el área (Cacho *et al.*, 1999).

Esta especie pudo haber tenido una colonización post-glacial y haber expandido su área de distribución hacia el Norte del Pacífico Colombiano. No obstante cabe destacar que esta concordancia entre los tiempos de coalescencia y los eventos climáticos pasados podría ser debido no solo a procesos demográficos, sino también a procesos selectivos ligados a eventos climáticos.

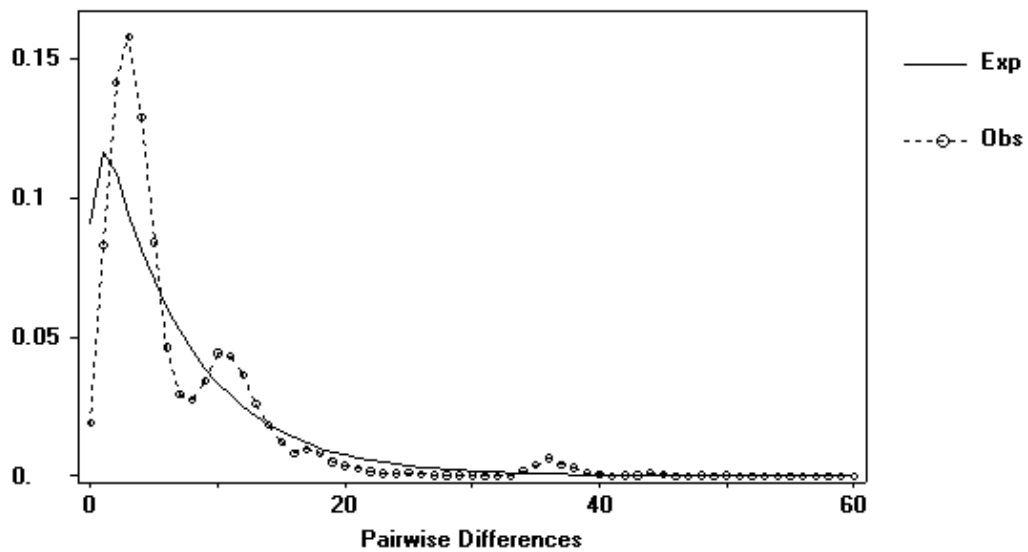
Para muchas especies tropicales, las aguas frías parecen limitar su dispersión, debido a su dependencia por las aguas cálidas (20° C). El aislamiento de la población puede ser intensificado durante la reducción de la población, como consecuencia de los acontecimientos glaciales, con la disminución de la TSM, lo que probablemente ocurrió con la población ubicada en la región sur del Pacífico colombiano. Por consiguiente, durante los períodos interglaciales, el incremento de la TSM pudo restablecer el intercambio genético entre poblaciones, las cuales pueden colonizar nuevas áreas, como en el caso del dorado en el Centro/Norte del Pacífico Colombiano.

La Figura 3-4 presenta las curvas de distribución (*Mismatch Distribution*) y los valores obtenidos para las secuencias del ADN mitocondrial de *C. hippurus*, en los tres sitios de muestreo en el Pacífico Colombiano. El histograma de la curva de la distribución de las diferencias (*Mismatch Distribution*) observado para el dorado presentó un patrón unimodal, representando al nivel de genoma una población en expansión reciente (no hubo diferencias significativas  $p > 0,05$  del modelo de expansión) (Rogers y Harpending, 1992; Patarnello, 2007), para las regiones de Chocó y Valle del Cauca. Todavía, para la región de Nariño, presentó un patrón multimodal, representado generalmente por una población estable.

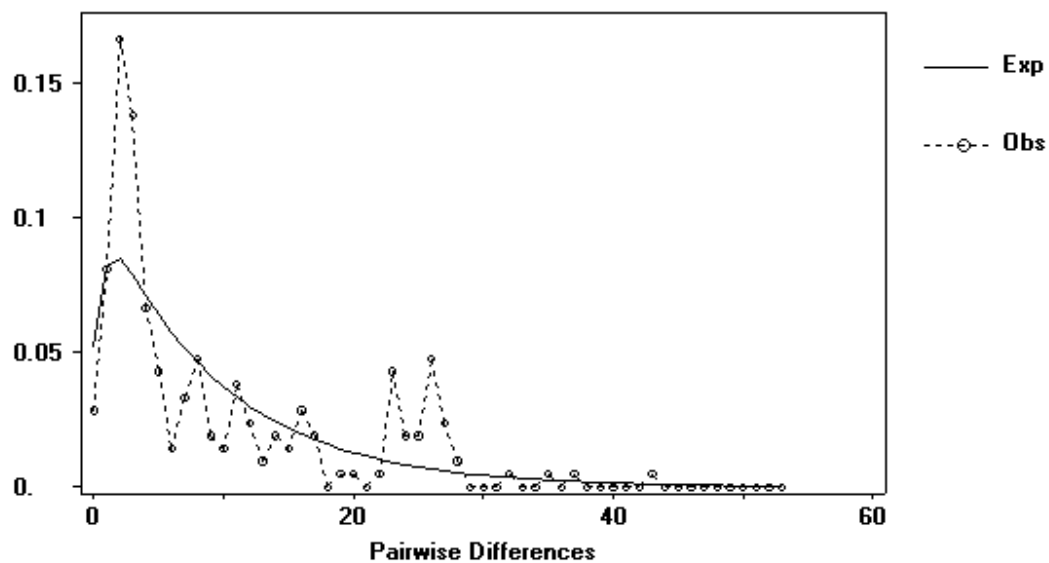
El mismo patrón multimodal del histograma de la curva de distribución de las secuencias de Nariño fue encontrado en el Ecuador, utilizándose las secuencias de dorado del mismo gen ND1 (Díaz-Jaimes *et al.*, 2010). Posiblemente, este patrón esté relacionado con el tiempo de coalescencia de la especie para esas regiones, mayor cuando comparado con las regiones de Chocó y Valle. Probablemente, ese tiempo sea el suficiente para generar la estabilidad de la población, indicando la presencia de un tamaño poblacional constante.

**Figura 3-4.** Curva de distribución (*Mismatch Distribution*) y valores obtenidos para las secuencias del ADN mitocondrial (ND1) de *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Colombiano. La línea sólida del histograma representa la diferencia entre pares esperada, mientras la línea punteada los valores observados. (A) Chocó; (B) Valle del Cauca; (C) Nariño.

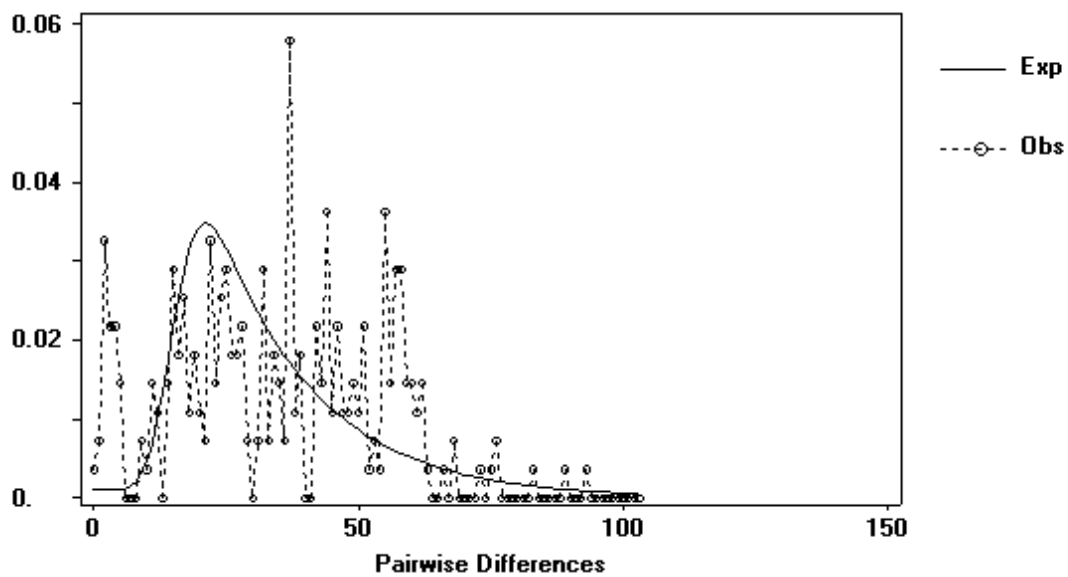
(A)



(B)



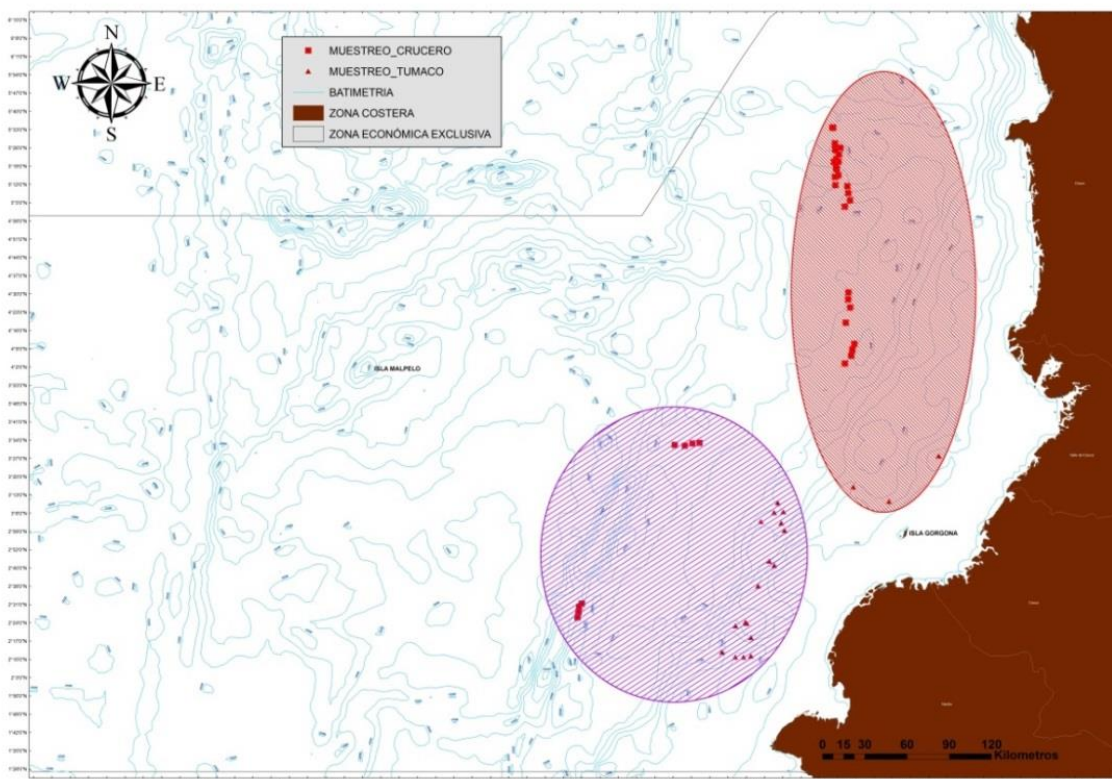
(C)



De ese modo, es posible inferir que los sitios muestreados de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano, Chocó y Valle del Cauca pertenecen a un mismo grupo genético y Nariño a

otro grupo, correspondiendo desde el punto de vista genético a dos poblaciones (Figura 3-5), aunque con un ancestro común, restringidas a determinadas condiciones ecogeográficas. Las subpoblaciones de Chocó y Valle del Cauca presentan diferencias genéticas muy sutiles, lo que puede indicar un proceso de colonización reciente y/o efecto fundador. Diferentemente de la población de Nariño, en concordancia con el tiempo de coalescencia de esa población y con su curva de distribución (*Mismatch Distribution*), además de posiblemente ser la población ancestral, ella presenta una curva para población estable.

**Figura 3-5.** Agrupamientos genéticos de *Coryphaena hippurus* para el ADN mitocondrial (gen ND1) en el Pacífico Colombiano.



### 3.4 Conclusiones

Por primera vez, se identificó la estructura genética poblacional y los niveles de variabilidad genética del dorado, en el Pacífico Colombiano, a través de las secuencias del ADN mitocondrial (ND1). La utilización del ADN mitocondrial permitió la realización de las inferencias cuanto al tiempo de coalescencia de las poblaciones de dorado y al conocimiento de su estructura genética a partir de los procesos históricos, cuando probablemente ocurrió la expansión de la población para el centro/norte del Pacífico Colombiano.

Se evidencia una diferencia significativa entre las muestras colectadas en distintos sitios. A pesar de su relativa cercanía geográfica, se refleja una estructura genética, siendo que los dos sitios de muestreo (Chocó y Valle del Cauca) conforman una población en el Pacífico Colombiano, mientras Nariño, otra población. Por lo tanto, se sugiere que exista un patrón de diferenciación por distancia geográfica.

La más alta diversidad haplotípica y nucleotídica encontrada en Nariño, en comparación con los demás sitios de muestreo, sugiere que esta región pueda tener la población más antigua y estable de dorado en el Pacífico Colombiano, en concordancia con su tiempo de coalescencia y con la curva de distribución (*Mismatch distribution*) multimodal, respectivamente. La similitud encontrada entre Nariño y Ecuador, cuanto a la curva de distribución multimodal y al tiempo de coalescencia, posiblemente esté relacionada con la conexión favorecida por las condiciones oceanográficas existentes entre esas regiones.

Por su parte, las más bajas diversidades encontradas en Valle del Cauca y Chocó, y los más recientes tiempos de coalescencia, con una curva de distribución (*Mismatch distribution*) unimodal, sugieren que estos sitios pasaron por procesos de colonización recientes y/o efecto fundador. Posiblemente ocasionada por las condiciones oceanográficas de esas regiones.

## **4. Modelación de nicho para el dorado (*Coryphaena hippurus* L.) en el Pacífico Colombiano, teniendo en cuenta la TSM, Chl-a, SLA y batimetría**

### **Niche Modeling for dolphinfish (*Coryphaena hippurus* L.) in the Colombian Pacific using SST, Chl-a, SLA and bathymetry**

#### **Resumen**

El dorado es una especie pelágica cosmopolita. En el Pacífico Colombiano es objeto de desarrollo por parte de las pesquerías, por su potencial económico. Sin embargo, faltan estudios regionales sobre su distribución, que contribuyan a mantener su disponibilidad a través del uso sustentable. En este contexto, la modelación de nicho ecológico es una importante herramienta para definir políticas de conservación y estrategias de manejo de las especies. Con el fin de conocer las áreas de distribución espacial de las poblaciones de dorado en el Pacífico Colombiano y relacionarlas con las preferencias biofísicas estacionales, se usaron 51 puntos de captura industrial y artesanal de la especie en el Pacífico Colombiano, entre 2009 y 2011. Como predictores de la distribución del dorado se utilizaron las variables ambientales: TSM, concentración de Chl-a, SLA y batimetría, para un período de 10 años (2002 a 2012). Para definir su nicho ecológico, se usaron SIG, se construyó un PCA, un dendrograma, se aplicó la técnica de remuestreo de Jackknife y se usó el algoritmo de modelación MaxEnt para generar un mapa de distribución potencial.



Los dos primeros componentes del PCA explicaron el 88.85 % de la variabilidad, siendo la TSM y la Chl-a las variables que más contribuyen a diferenciar espacialmente los haplotipos. Resultados similares se encontraron con el dendrograma, que mostró una clara separación geográfica de los haplotipos, constituyendo dos grupos (Nariño, Chocó y Valle del Cauca). Se encontró para los porcentajes de contribución y prueba de Jackknife los mayores valores para TSM (75%), seguida por Chl-a (18,9%), SLA (4,9%) y batimetría 1,2%. TSM y Chl-a influyen en gran medida la distribución del dorado en el Pacífico Colombiano. El modelo generado mostró una buena fiabilidad y una mayor disponibilidad de hábitat en las regiones norte, centro y sur del Pacífico Colombiano, extendiéndose hacia la zona noroeste de la Zona Económica Exclusiva.

**Palabras clave:** *C. hippurus*, nicho ecológico, Temperatura Superficial del Mar, clorofila-a.

## Abstract

Dolphinfish is a pelagic cosmopolitan species. In the Colombian Pacific, this fishery is not utilized to their economic potential. However, studies are lacking on regional distribution, which help maintain their availability for sustainable use. In this context, ecological niche modeling is an important tool for defining conservation policies and management strategies of species. In order to know the areas of spatial distribution of dolphinfish in the Colombian Pacific and establish relationship with the biophysical seasonal preferences, 51 points were used from industrial and artisanal catch of the species along the Colombian Pacific coast, for the years 2009-2011. As the distribution predictors the environmental variables, sea surface temperature, chlorophyll-a, sea level anomalies and bathymetry were used, for a period of 10 (2002-2012). In order to defining its ecological niche, we used GIS, a PCA, a cluster analysis, the resampling technique Jackknife test and the MaxEnt modeling algorithm to generate a potential distribution map. The first two PCA components explained 88.85% of the variability, being SST and Chl-a the variables that most contribute to spatially differentiate the haplotypes. Similar results were found through the dendrogram, which showed a clear geographical separation of the haplotypes, constituting two groups (Nariño, Chocó and Valle del Cauca). We found for the contribution rates and Jackknife test the highest value for SST (75%), followed by Chl-a (18.9%), SLA (4.9%) and bathymetry 1.2%. SST and Chl-a greatly influence the distribution of dolphinfish in the Colombian Pacific. The

generated model showed a good reliability and a greater availability of habitat in the northern, central and southern Colombian Pacific regions, extending to the northwest of the Exclusive Economic Zone.

**Key words:** *C. hippurus*, ecological niche, sea superficial temperature, chlorophyll-a.

## 4.1 Introducción

Tradicionalmente se pensaba que las poblaciones de especies marinas tenían una gran homogeneidad genética debido a la aparente ausencia de barreras en la distribución de los organismos. Sin embargo, en las últimas décadas, se ha observado que la dinámica espacial y temporal del flujo genético es más compleja de lo que se asumía. Ello se debe a que las corrientes marinas, giros y frentes oceánicos pueden reducir o aumentar la mezcla y difusión de larvas y adultos de una manera importante, afectando claramente a la estructura de las poblaciones (Weersing y Toonen, 2009). De esta manera, dos zonas adyacentes pueden estar aisladas genéticamente si están localizadas en diferentes lados de un frente oceánico (Gilg y Hilbish, 2003), y dos poblaciones distantes pueden estar conectadas si existe una corriente que las une (Mitarai *et al.*, 2009).

Conocer la dinámica oceanográfica puede, en consecuencia, mejorar la interpretación de la estructura poblacional de cualquier especie, permitiendo cuantificar de una forma más precisa la conectividad entre las poblaciones marinas (Gilg y Hilbish, 2003; Galindo *et al.*, 2006; Galarza *et al.*, 2009). Por lo tanto, entender los factores que determinan los patrones de distribución de los organismos y de sus poblaciones ha sido objeto de diversos estudios en las últimas décadas (Palumbi *et al.*, 1997; Lessios, 1998; Selkoe *et al.*, 2008).

Los resultados han identificado varias barreras a la dispersión con base en los patrones filogeográficos derivados de barreras oceanográficas en una amplia variedad de taxa a través de los mares y océanos del mundo (Duda y Lessios, 2009; Reece *et al.*, 2010; Teske *et al.*, 2011). No obstante, siguen existiendo numerosos vacíos en la mayor parte de

especies como el dorado y especialmente en aquellas zonas donde la oceanografía es compleja, como es el caso de la Cuenca Pacífica Colombiana.

Las alteraciones ambientales dan lugar a respuestas tales como cambios en los patrones de las poblaciones de varias especies de peces. Además, la conectividad marina está naturalmente afectada por las características de la dinámica oceanográfica como la proximidad de estuarios (Epifanio y Garvine, 2001), la presencia de fuertes corrientes (Bortolotto *et al.*, 2011; Schunter *et al.*, 2011a), discontinuidades oceanográficas como afloramientos o frentes (Galarza *et al.*, 2009b) o la estratificación de la columna de agua (Largier, 2003; Gawarkiewicz *et al.*, 2007).

El incremento en la temperatura del mar ha afectado directamente la distribución del recurso pesquero y el desplazamiento de los límites geográficos de muchas especies (Anadón y Taboada, 2012), por ejemplo en Chile la pesca de sardina y anchoveta presentan una alteración en el patrón de migración cuando se producen fuertes incrementos de TSM (Yáñez *et al.*, 1995). Gutiérrez *et al.* (2012) registran que es posible que el recurso del dorado esté experimentando un cambio en su patrón migratorio a su paso por Colombia más tarde en el tiempo y más alejado de la costa.

La dispersión de especie pelágicas tropicales, restringidas a aguas cálidas (18-24°C), también está condicionada por la TSM, representando una importante barrera para la conectividad entre cuencas y entre océanos. Por lo tanto, para poder explicar cómo la mayoría de las grandes especies pelágicas distribuidas circuntropicalmente han alcanzado sus patrones filogeográficos actuales se debe considerar tanto los procesos históricos como los contemporáneos. Al igual que otras especie marinas, la distribución y abundancia del dorado depende de parámetros oceanográficos, principalmente la TSM (Farrell y Halpin, 2009; Selvaraj *et al.*, 2010a) y concentración de Chl-a (Farrell y Halpin, 2009).

En diferentes países se ha observado que la TSM influye sobre la migración del dorado hacia las áreas de desove (Massutí y Morales-Nin, 1995; Norton, 1999; Oxenford, 1999; Arocha *et al.*, 1999; Kraul, 1999; Lasso y Zapata, 1999; Wu *et al.*, 2001; Schwenke y Buckel, 2008), el crecimiento (Kraul, 1999; Mahon y Oxenford, 1999; Oxenford, 1999), la alimentación (Hassler y Hogarth, 1977), la supervivencia de las cohortes (Kraul, 1999) y la

reproducción (Arocha *et al.*, 1999; Potoschi *et al.*, 1999; Zúñiga-Flores *et al.*, 2008; Alejo-Plata *et al.*, 2011; Zúñiga-Flores *et al.*, 2011). Estos estudios se desconocen o son muy pocos para el Pacífico Colombiano, especialmente cuando se asocian al estudio de la estructura genética de las poblaciones del dorado en esta región.

En el Pacífico Colombiano, las capturas de dorado son registradas durante el periodo de diciembre a marzo (Baos-Estupiñán, 2013), presentando la mayor abundancia en febrero y marzo (Lasso y Zapata, 1999), cuando los rangos de TSM son de 25,5°C a 27,5°C (Selvaraj *et al.*, 2010b) y correspondiendo con las temperaturas más bajas registradas con relación a los demás meses del año (Guzmán *et al.*, 2010; Giraldo *et al.*, 2010) y con rangos de Chl-a entre 0,04 a 4,08 mg.m<sup>-3</sup>, que corresponde a los más altos del año (Guzmán *et al.*, 2010). La ocurrencia de mayores capturas se relacionan con la formación de frentes térmicos (Selvaraj *et al.*, 2010a), mayores valores de salinidad en el Pacífico Colombiano (Giraldo *et al.*, 2010) y con los eventos de El Niño (Baos-Estupiñán, 2013). Según Baos-Estupiñán (2013), durante El Niño del año de 2010 en cinco meses, se capturaron individuos con tallas mayores y hubo una mayor CPUE.

Con el uso de modelos espaciales multivariados fue revelado las preferencias biofísicas estacionales del dorado para definir su nicho ecológico en el Océano Atlántico (Farrel y Halpin, 2009). Las imágenes satelitales permitieron identificar características oceanográficas y biológicas que forman el hábitat de las especies, como las concentraciones de clorofila-a y la TSM, facilitando el análisis de la dinámica de los ecosistemas. Estas imágenes, cuando son integradas a un SIG, generan una base de datos confiable, sirviendo como una herramienta para incrementar la probabilidad de captura por parte de la flota pesquera y/o definiendo área de protección de los recursos, contribuyendo en la toma de decisiones para el manejo de las especies (Solanki *et al.*, 2005; Gregr y Bodtker, 2007).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue relacionar la distribución espacial y temporal de la(s) población(es) de dorado en el Pacífico Colombiano con las variables ambientales (Temperatura Superficial del Mar - TSM; clorofila-a - Chl-a, y anomalías del nivel del mar - SLA), usando Sistemas de Información Geográfica. Y, determinando, por primera vez, la

modelación de nicho para *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Colombiano, incluyendo las variables: Temperatura Superficial del Mar - TSM; clorofila-a - Chl-a; anomalías del nivel del mar – SLA y batimetría.

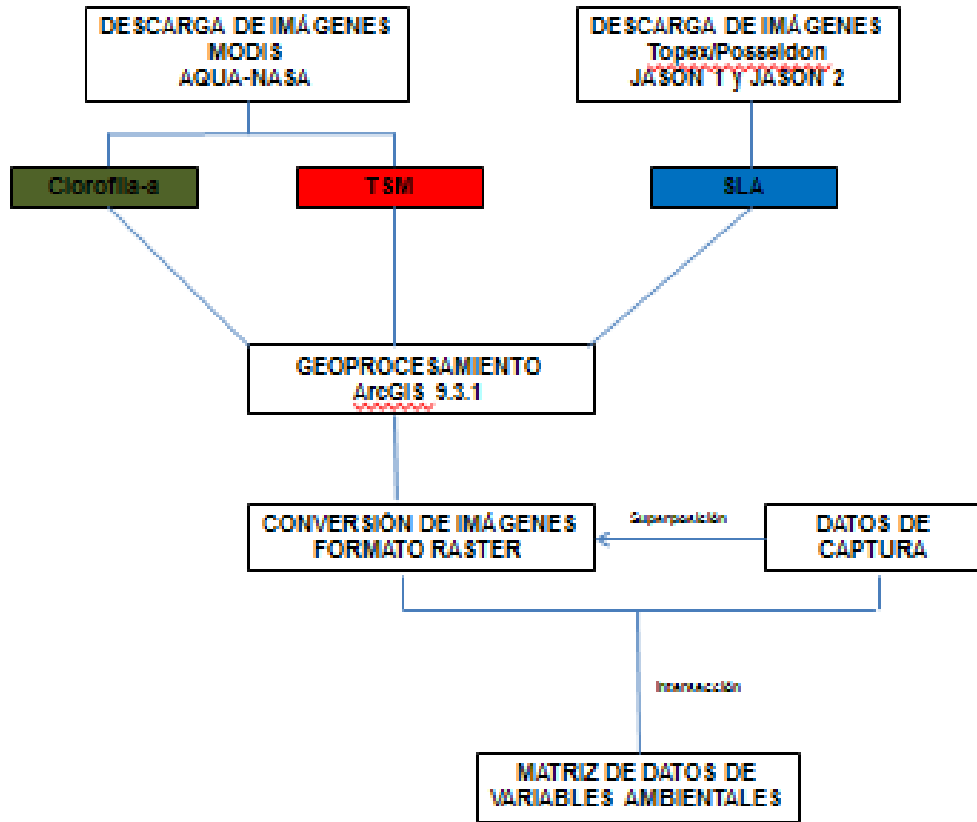
## 4.2 Materiales y Métodos

### **Conformación de matriz de variables ambientales utilizando SIG**

Para la integración de las variables ambientales (TSM, Chl-a y SLA) con los datos obtenidos de los análisis moleculares se generó una matriz, partiendo de las fechas de captura (años 2009, 2010 y 2011) y las coordenadas geográficas de las 26 estaciones muestreadas, presentada en el Anexo D. Se hizo la descarga de datos satelitales de TSM y Chl-a del sensor MODIS, con una resolución de 4 km, nivel 3. Estas imágenes fueron descargadas semanalmente en un formato HDF y convertidas a Raster, usando ArcGIS 9.3.1. Para tener una mayor precisión en la altimetría (nivel del mar) se usaron datos de los productos de altimetría multimisional de Ssalto/Duacs, distribuidos por el programa AVISO – CNES.

Las imágenes de altura de nivel del mar se obtuvieron de Topex/Poseidon, JASON 1 y JASON 2 con desfase de una semana (DT-MSLA), luego se hizo el geoprocésamiento en ArcGIS y la conversión de imágenes a Raster (Robert *et al.*, 2010). Una vez convertidas las imágenes, se extrajeron los valores de las variables (TSM, Chl-a y SLA) correspondientes a las coordenadas de las capturas de dorado obtenidas entre 2009 y 2011. Se construyó la matriz de datos en Excel, conformada por los valores de las variables (columnas) y haplotipos (filas), posibilitando así la integración de datos (Figura 4-1; Anexo E).

**Figura 4-1.** Sinopsis de la metodología empleada para la elaboración de matriz para integración de las variables ambientales TSM, Chl-a y SLA con los datos genéticos.



### Análisis de componentes principales (PCA)

Para evaluar cómo las variables TSM, Chl-a y SLA afectan la distribución de los haplotipos, se codificaron los individuos conforme al haplotipo encontrado (Anexo 3) usando el software Network v.4.6.1.0 (Fluxus Technology), y los valores promediados de las variables. Estas tres variables se usaron como principales moduladores de la distribución y ecología de la especie y se generó un Análisis de Componentes Principales con el software R v. 2.15.2 (R Development Core Team, 2008), con el fin de observar si hay una conformación en grupos relacionados con su distribución geográfica (Nariño, Valle del Cauca y Chocó).

### **Obtención de datos genético-moleculares**

Se utilizaron muestras de 5 cm de la aleta dorsal de 150 individuos capturados, preservadas en alcohol etílico a 70% bajo refrigeración (4°C), identificadas por sitio de captura, fecha y sexo. Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.

El ADN fue extraído a partir de la digestión de la aleta con proteinasa K. Se utilizó el kit de extracción de ADN DNeasy® Blood y Tissue, Quiagen. Se adicionó RNAsa a un volumen de 1  $\mu$ l y se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 0,8%, corridos en tampón TBE 0.5X (Tris-borato 0.045M; EDTA 0.001M), con tinción por bromuro de etidio 1  $\mu$ l. La integridad del ADN se visualizó sometiendo el gel a UV y se fotografió. Para la cuantificación se adicionó en cada gel el ADN del Bacteriófago Lambda (30, 45 y 60ng/ $\mu$ l) y se comparó con las bandas obtenidas. La calidad del ADN se probó a través de PCR. Se utilizó el gen mitocondrial NADH dehidrogenasa subunidad 1 (ND1) del dorado (1400 pb) para la creación de los cebadores, posteriormente empleados en la PCR. Los productos de PCR se enviaron para purificación y secuenciación a MACROGEN Inc., Korea.

Las secuencias se analizaron visualmente, se editaron con ChromasPro y DNAMAN y se alinearon con ClustalW v1.81 (Thompson *et al.*, 1997) del programa Mega v5. En seguida se revisaron en la base de datos de NCBI, usando el algoritmo BLASTn para estimar el score (puntuación) y confirmar la especie en estudio. La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), la diversidad haplotípica ( $h$ ) y sus desviaciones estándar fueron calculadas para cada sitio del Pacífico Colombiano, usando el programa DnaSP v5 (Librado y Rozas, 2009). La red de los haplotipos fue construida usando el algoritmo “Median Joining network” (Bandelt *et al.*, 1999), implementado en el programa Network v.4.6.1.0 (Fluxus Technology).

A partir de la definición de cada haplotipo, se hizo una codificación de cada uno de los individuos a un haplotipo (p.e. Chip33, Chip44 y demás). Esos haplotipos fueron relacionados con las variables ambientales pertenecientes a su sitio de captura y se hizo la generación de un cluster. Para generar el cluster se usaron TSM, Chl-a y SLA, las cuales se escalaron (se dividieron) por su desviación estándar, para obtener variables con media=0 y varianza=1, con el objetivo de que la agrupación se hiciera con igual peso para todas las variables, ya que los clústeres o agrupamientos son muy sensibles al rango de

las variables. De ese modo se evita que se estén generando una agrupación jerárquica con base en la variable con mayor variabilidad, no asumiendo agrupaciones *a-priori* como lo requiere el método de K medias, con el fin de obtener un dendrograma en donde la distancia entre las ramas indica la relación de cercanía entre individuos.

### **Modelo de distribución predictivo o nicho ecológico para la especie en el Pacífico Colombiano**

En cuanto la modelación de nicho ecológico para el dorado, se delimitó el área de estudio a la región Pacífica entre los 0°- 11° N de latitud y -76°- 89° O de longitud. Se usaron los puntos de captura georreferenciados e registrados en ese estudio, las capas de batimetría (Etopo 1 Global Relief Model) y las medias de las variables de TSM, SLA y Chl-a, con una resolución de 4 Km en formato Raster, para un periodo de tiempo de 10 años (2002-2012). Sin embargo, antes de importar los datos a MaxEnt se convirtió estas variables (capas) a formato ASCII utilizando el software ArcGIS 9.3.1, y los datos de presencia a formato \*csv. Luego los datos se importaron al programa y se modificaron los parámetros con el fin de condicionar el modelo.

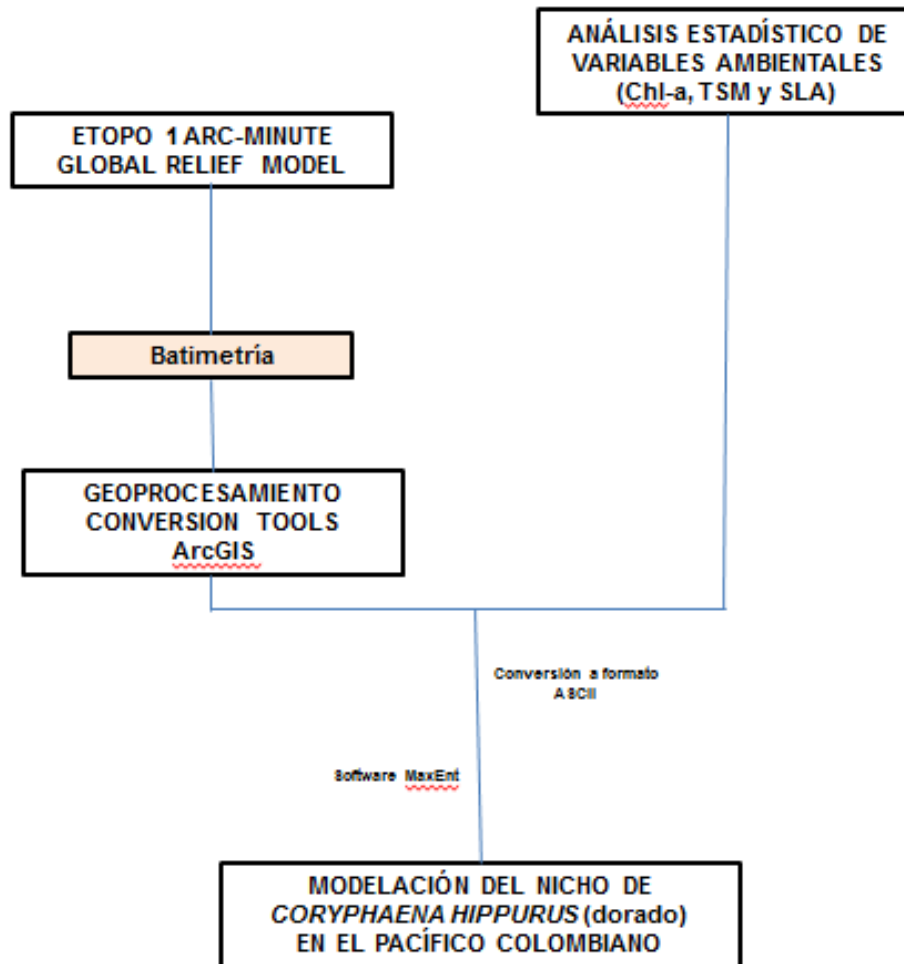
Posteriormente los datos se ingresaron en el software *MaxEnt* v3.3.3k (Anexo F), el cual está diseñado para estimar la distribución de probabilidad de ocurrencia de una especie sobre la base de las limitaciones ambientales (Phillips *et al.*, 2006). Por lo tanto, modela la distribución geográfica de las especies, utilizando como datos sólo los sitios de presencia y las variables bioclimáticas asociadas a cada uno de esos puntos de presencia. Para modelar las distribuciones se basa en el principio de máxima entropía (Araújo y New, 2007), que es una medida de aleatoriedad de un objeto y su valores mayor cuando se acerca a la distribución uniforme. *MaxEnt* estima distribuciones que deben de estar de acuerdo con todo lo que se conoce (aunque sea de manera incompleta) de la información inferida de las condiciones ambientales de las localidades de ocurrencia y evitar restricciones infundadas (Araújo y New, 2007).

Para la modelación (Anexo F) se usó como umbral de presencia la opción 'Maximum training sensitivity plus specificity' realizando 25 réplicas, para obtener un modelo promedio de estas en el programa y reducir el ruido en el análisis (Araújo y New, 2007). Además, se escogió la salida de datos logística para obtener el mapa de distribución



potencial y se usó el 25% de los datos para modelación, para probar la fiabilidad del modelo con una validación cruzada del área bajo la curva (AUC) (evaluación del modelo), tomando valores de  $AUC > 0.7$  como modelo estable. Por último el modelo final fue visualizado y manipulado en ArcGIS Desktop 9.3.1. Una vez realizados los análisis al archivo de resultados de MaxEnt para la Cuenca Pacífica Colombiana y con el fin de evaluar la respuesta ecológica se generó una tabla de porcentaje de contribución de las variables utilizadas al modelo final (Figura 4-2).

**Figura 4.2.** Etapas para la modelación del nicho ecológico del dorado (*C. hippurus*) en la Cuenca Pacífica Colombiana.



### 4.3 Resultados y Discusión

Las poblaciones marinas tienden a agregarse para reproducción, alimentación, protección y migración (Palacios *et al.* 2006). Su capacidad para realizar estas actividades depende en parte de las características de su entorno físico. Las estimaciones de clorofila-a y TSM son de particular importancia para la oceanografía biológica y pesquera, para el entendimiento de las fluctuaciones en el océano y su efecto en la estructura del ecosistema (Manzano-Sarabia *et al.*, 2008). La clorofila-a es considerada como un indicador grueso de fitoplancton (Luch-Cota, 2000; Signoret *et al.*, 2006), mientras que la TSM es reconocida como un factor que influye en los patrones de distribución y crecimiento de las poblaciones marinas (Dower *et al.*, 2000). A su vez, la variabilidad intraestacional e interanual del nivel del mar es fundamental en la determinación de la variación del clima regional y global (Han y Webster, 2002; Iskandar *et al.*, 2005), y ayuda a entender la compleja dinámica de los océanos (Gnanaseelan y Vaid, 2010).

En el presente estudio, los valores promedios de TSM, Chl-a y SLA obtenidos en los sitios de muestreo se registran en la Tabla 4-1 y, los valores de cada fecha de captura de dorado en el Anexo D. De modo general, la TSM no presenta variación importante entre los tres sitios de muestreo, pero se observa una disminución en el sentido norte – sur (Chocó – Nariño). Los niveles de Chl-a, son más altos en la región intermedia (Valle del Cauca). Sin embargo, los datos más contrastantes lo presentan las SLA; mientras Chocó y Valle del Cauca muestran niveles similares y positivos indicando elevaciones en la superficie del mar, Nariño muestra hundimientos (Tabla 4-1), mostrando diferentes patrones de circulación ó movimientos en forma de remolinos o giros debido a la diferencia de altura en la superficie del mar. En Chocó y Valle se presenta convergencia de masas de agua que hace que la superficie del mar se eleve, formando giros calientes, poco productivos debido al hundimiento de la termoclina. La termoclina es el límite entre las masas de aguas profundas ricas en nutrientes y las superficiales pobres en nutrientes. En Nariño se presenta divergencia de las masas de agua, provocando que la superficie del mar baje, la termoclina suba acercando las aguas ricas en nutrientes del fondo a la superficie y se formen giros fríos y productivos.

**Tabla 4-1.** Valores promedios de TSM, Chl-a y SLA obtenidos en los sitios de muestreo del dorado, en el Pacífico Colombiano.

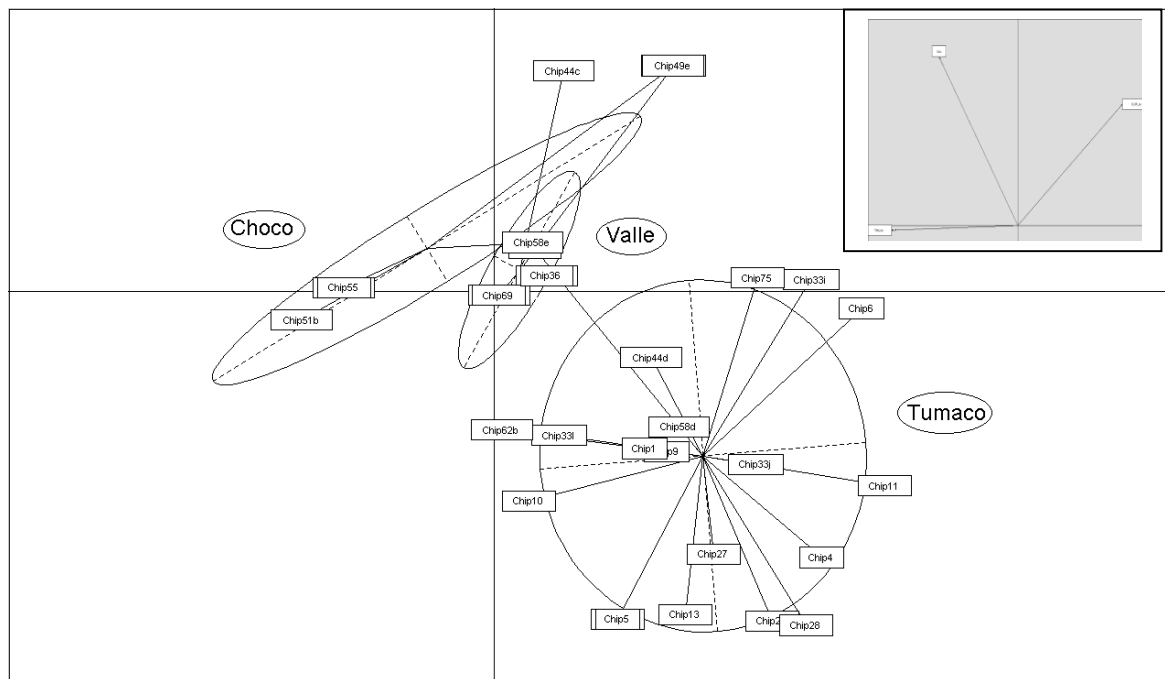
Sitio de Muestreo	TSM(°C)	Chl-a (mg.m <sup>-3</sup> )	SLA (cm)
Chocó	27.1923	0.3411	8.8719
Valle del Cauca	26.8479	0.4144	8.2025
Nariño	26.3117	0.3756	-1.9833

Según Lasso y Zapata (1999) es posible que la ruta migratoria de esta especie pueda estar relacionada con las corrientes de la superficie oceánica, en la región del Pacífico Oriental. Durante la ocurrencia del fenómeno de El Niño, la especie migra hacia el sur y está más disponible hacia el norte del Perú, probablemente en búsqueda de aguas cálidas (Lasso y Zapata, 1999).

Entre los meses de enero y abril se presentan isotermas a diferentes profundidades al igual que aumento de la salinidad y del contenido de nutrientes, las cuales indican la existencia de un flujo de aguas afloradas fuera de la bahía de Panamá, que son tomadas por el remolino ciclónico de la corriente de Colombia, el cual presenta forma elíptica (Valencia *et al.*, 2013). El ramal que fluye hacia el sur (dirección S-SW) se desarrolla más fuertemente de diciembre a abril (Valencia *et al.*, 2013), época que coincide, según Lasso y Zapata (1999), con las mayores capturas en Colombia. Durante este período la mayoría del agua se enfría y enriquece las aguas oceánicas del Pacífico Colombiano y se desvía hacia el SW uniéndose a la circulación generalizada cerca a los 5°N – 8°W. Durante el resto del año el remolino frente a Colombia se desarrolla más débilmente (Valencia *et al.*, 2013).

El Análisis de Componentes Principales mostró que la variabilidad (inercia) explicada en el CP1 fue del 57.133 % y en el CP2 31.367%. Juntos, explican el 88.85 % de la variabilidad total. Con el PCA se puede concluir que los haplotipos de Chocó y Valle del Cauca son muy parecidos entre sí además de estar sometidos a mayor variabilidad de TSM y SLA y menor valor de Chl-a. Por otro lado, los de Nariño (Tumaco) están sometidos a menor variabilidad de SLA y TSM y mayor de Chl-a y son diferentes a los de Chocó y Valle del Cauca; considerando que la longitud de los vectores indica la importancia de la variable para explicar el patrón de distribución de los haplotipos y el ángulo de los vectores la relación con las otras variables (Figura 4-3).

**Figura 4-3.** Distribución espacio-temporal de la TSM ( $^{\circ}\text{C}$ ), Chl-a ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ ) y SLA (cm) en el Pacífico colombiano de acuerdo con el Análisis de Componentes Principales.



La contribución de cada variable al CP1 muestra que la TSM contribuye con un alto porcentaje de su varianza al total, luego Chl-a y SLA, y para el CP2 SLA explica un alto porcentaje de la varianza, seguido por la Chl-a y finalmente la TSM (Tabla 4-2). Por lo tanto, la TSM es la variable que explica la mayor variación de los datos en el CP1 y hace con que los sitios se separen en el eje horizontal, menores valores de TSM se presentaron en Nariño (Tumaco) y mayores en Chocó. SLA es la variable que mejor explica la variación en el CP2, y así como la TSM, los menores de SLA se presentaron en Tumaco y los mayores en Chocó (Tabla 4-2, Figura 4-4). Los distintos valores presentados a lo largo de las regiones de la Cuenca Pacífica Colombiana y en las distintas épocas del año, sugieren la formación de discontinuidades oceanográficas, ocasionadas no por barreras geográficas, si no por diferencias en factores físicos-químicos y biológicos generados en esa aérea, posiblemente bajo el efecto de fenómenos de mesoescala, como los giros oceánicos.

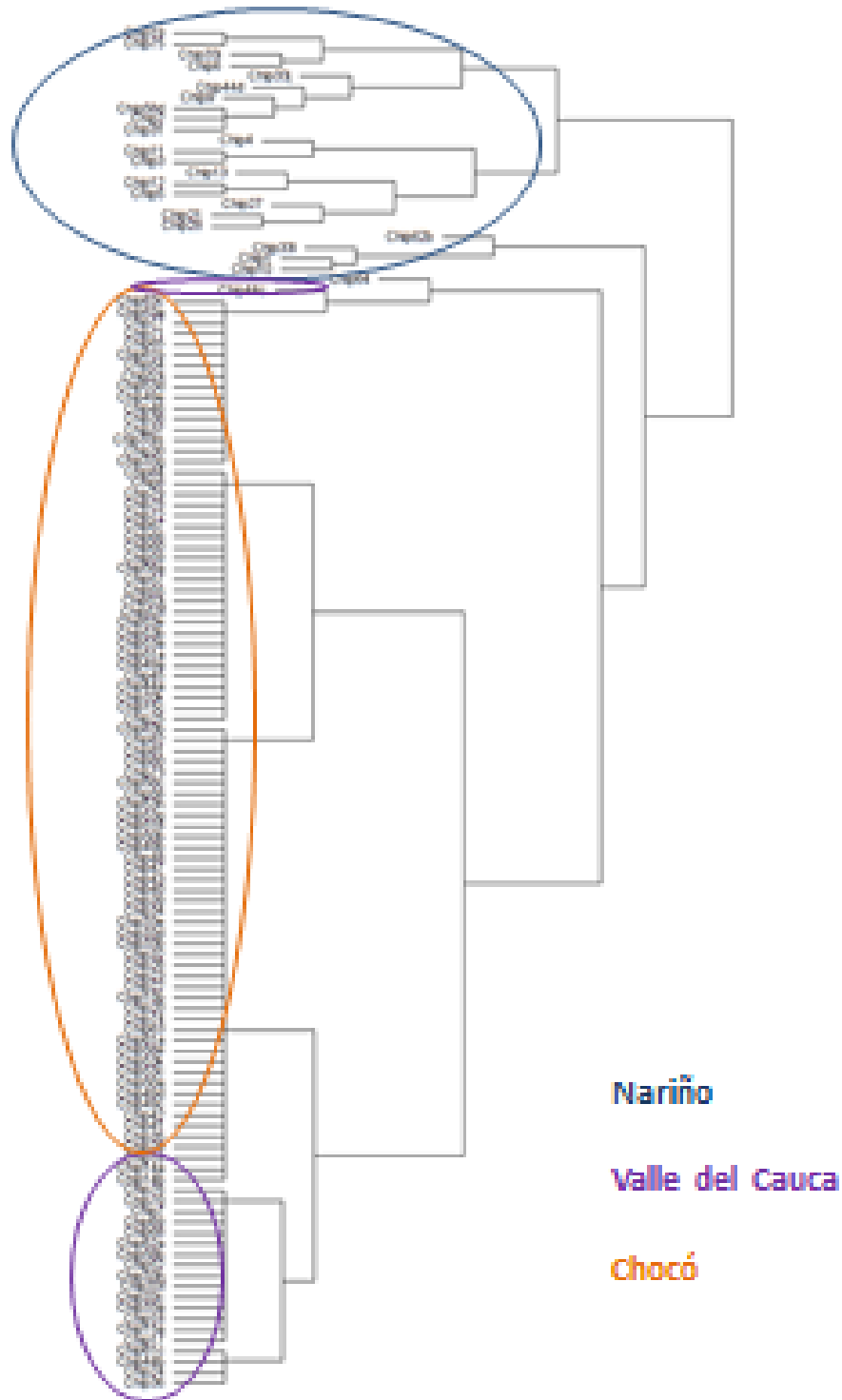
**Tabla 4-2.** Contribución de la varianza de las variables ambientales (TSM (°C), Chl-a (mg.m<sup>-3</sup>) y SLA (cm)) a los dos primeros Componentes Principales.

Variables	Componentes Principales	
	CP1 (eje X)	CP2 (eje Y)
Chl-a	33.01	34.06
TSM	48.22	0.06
SLA	18.77	65.89

Los grupos obtenidos en el dendrograma resultante de la relación de los datos ambientales (variables TSM, Chl-a y SLA) con los moleculares mostró una clara separación en dos grupos de haplotipos, siendo que el primero coincide con el sitio de muestreo en Nariño, más distante genéticamente que el segundo grande grupo, conformado por los sitios Valle del Cauca y Chocó (Figura 4-4). Por lo tanto, además de validar que existe una estructuración genética poblacional de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano, muestra que la misma está fuertemente relacionada con variables ambientales como la TSM y Chl-a. Estos resultados son similares a los encontrados con el método “Median Joining Network” para construir la red de haplotipos de secuencias de ADN mitocondrial (ND1),

Lo que se puede evidenciar que la dinámica oceanográfica del Pacífico Oriental Tropical, región donde se encuentra el Pacífico Colombiano, es compleja a lo largo del año, lo cual puede generar condiciones ambientales preferenciales para las especies (Pennington *et al.*, 2006). El Pacífico Oriental Tropical cuenta con distintas zonas biogeográficas, resultado de giros ciclónicos y anticiclónicos que generan zonas productivas y oligotróficas. Por ejemplo, la concavidad de Tehuantepec donde la termoclina es más profunda en invierno y primavera, constituye una provincia biogeografía de mar abierto con una comunidad biológica distinta (Lavín *et al.* 2006). Otra zona biogeográfica diferente la produce el chorro de viento de Panamá generado en el Istmo de Panamá en el primer trimestre del año, que ocasiona un desplazamiento de las masas de agua oceánicas superficiales, generando el afloramiento de las aguas profundas ricas en nutrientes y provocando la fertilización de las aguas en la región norte de la Cuenca, no ocurriendo lo mismo en la región sur.

**Figura 4-4.** Dendrograma de similitud de haplotipos por sitio de muestreo del dorado (Nariño, Valle del Cauca y Chocó) en el Pacífico Colombiano, relacionados con TSM, Chl-a y SLA.



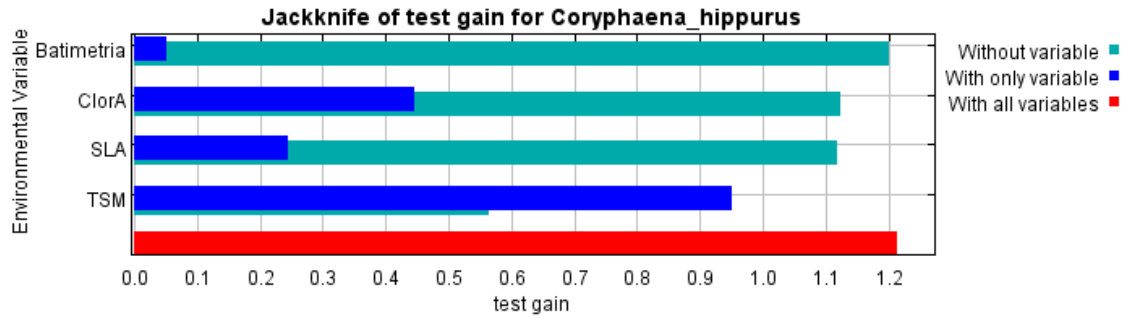
Bajo este escenario de variación espacio-temporal en las características oceanográficas, serían las barreras oceanográficas las posibles causantes de un aislamiento poblacional del dorado en el Pacífico Colombiano propiciando la diferenciación entre las poblaciones, (Figura 4-4). Si además se tienen en cuenta los requerimientos fisiológicos del dorado a lo largo de su ontogenia, entonces aspectos biológicos o ecológicos son probablemente los que dictan los patrones de estructura genética que presentó esta especie en las dos escalas de distancia.

Esta especie tiene un alto potencial de desplazamiento sin embargo, por sus características biológicas, es posible inferir que las condiciones ambientales u oceanográficas puedan impedir sus movimientos en diferentes escalas espaciales (Oxenford, 1999), como la restricción a ciertas temperaturas y concentraciones de salinidad y oxígeno (Kraul, 1999). Si el ambiente limita el desplazamiento del dorado, entonces podrían existir subpoblaciones discretas a lo largo de distribución, así como las dos poblaciones planteadas en ese estudio, dado que el flujo genético (la transferencia de genes de una población a otra por migración) puede ser detenido por barreras físicas, químicas, ecológicas o biológicas, o por la distancia geográfica que eviten la dispersión de organismos (Bobadilla-Jiménez, 2007). La conectividad de las subpoblaciones estará en función de qué tan acentuadas sean dichas barreras o discontinuidades oceanográficas para impedir en mayor o menor grado la migración.

En la modelación de nicho, se encontró para los porcentajes de contribución y prueba de Jackknife (Figura 4-5) los mayores valores para TSM (75%), seguida por clorofila-a (18,9%), anomalías del nivel del mar (4,9%) y batimetría 1,2% (Tabla 4-3). Por lo tanto, los resultados sugieren que la TSM y Chl-a son las variables ambientales que más influyen en la distribución del dorado en el Pacífico colombiano y, nos pueden indicar que estas dos variables son las que pueden acentuar las discontinuidades oceanográficas, impidiendo el desplazamiento de la especie entre las regiones del Pacífico Colombiano. Por lo tanto, la identificación de la dinámica de estas variables tan importantes en la distribución de la especie, contribuye en el aporte al manejo sostenible de los recursos, garantizando el mantenimiento de la especie como recursos biológico, genético y pesquero.

**Figura 4-5:** Resultado grafico de la prueba de Jackknife para *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Colombiano para calcular el valor de contribución de cada variable usada para modelación en

MaxEnt v3.3.3k. Las barras representan cada variable, en color azul se representa la contribución de la variable, en color verde, se representa el valor de la prueba sin la variable y en color rojo se muestra el valor de todas las variables combinadas.



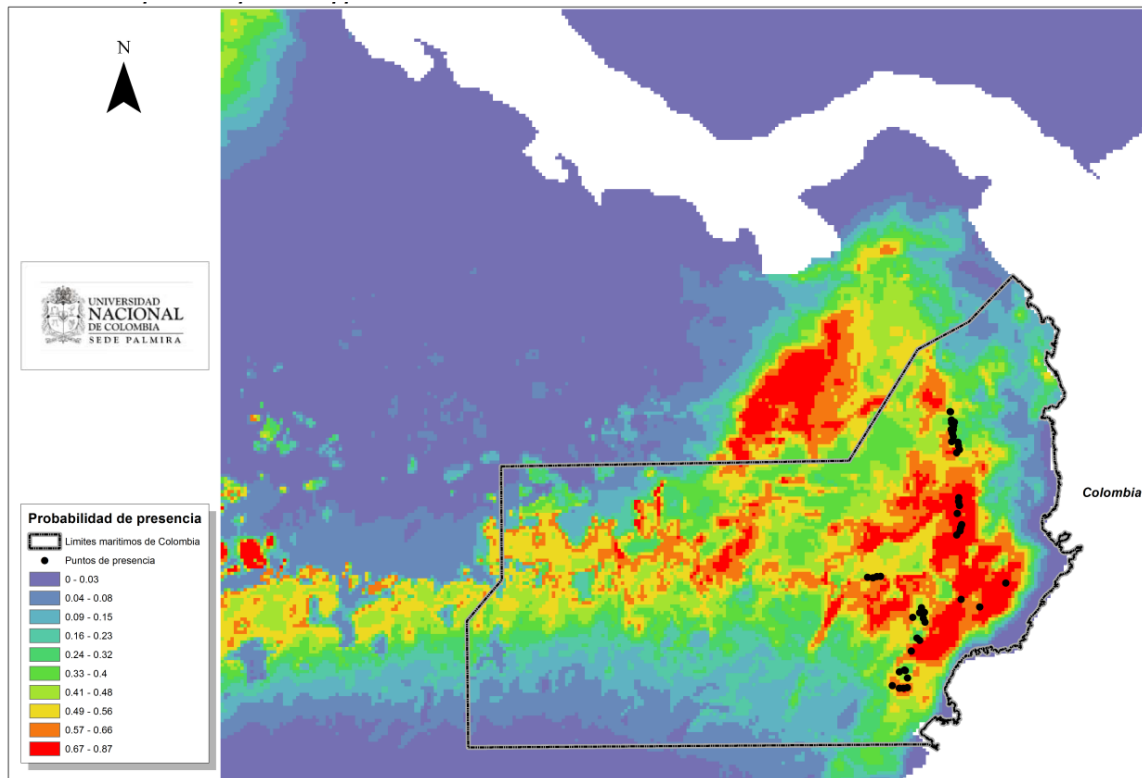
**Tabla 4-3:** Análisis de la contribución de TSM (°C), Chl-a (mg.m<sup>-3</sup>), SLA (cm) y batimetría (m) para la modelación del nicho de *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Colombiano.

Variable	Porcentaje de contribución
Temperatura Superficial del Mar (TSM)	75
Clorofila-a (Chl-a)	18.9
Anomalías del nivel del mar (SLA)	4.9
Batimetría	1.2

Una vez determinada la contribución de cada una de las variables ambientales, se determinó la distribución potencial del dorado para el Pacífico Colombiano. Los colores rojos definen los sitios de mayor probabilidad de la presencia de la especie (Figura 4-6). Estos coinciden, en gran parte, con los sitios de muestreo, en frente a los departamentos de Nariño (sur), Valle del Cauca (centro) y Chocó (norte) (Figura 4-6). Para confirmar tal distribución se empleó un método de valor umbral, que consiste en un grupo de algoritmos con la finalidad de segmentar gráficos “rasterizados”, convirtiendo la imagen a una nueva, separando los objetos de interés de los demás, decidiendo por tanto qué píxeles la conforman (Figura 4-7).

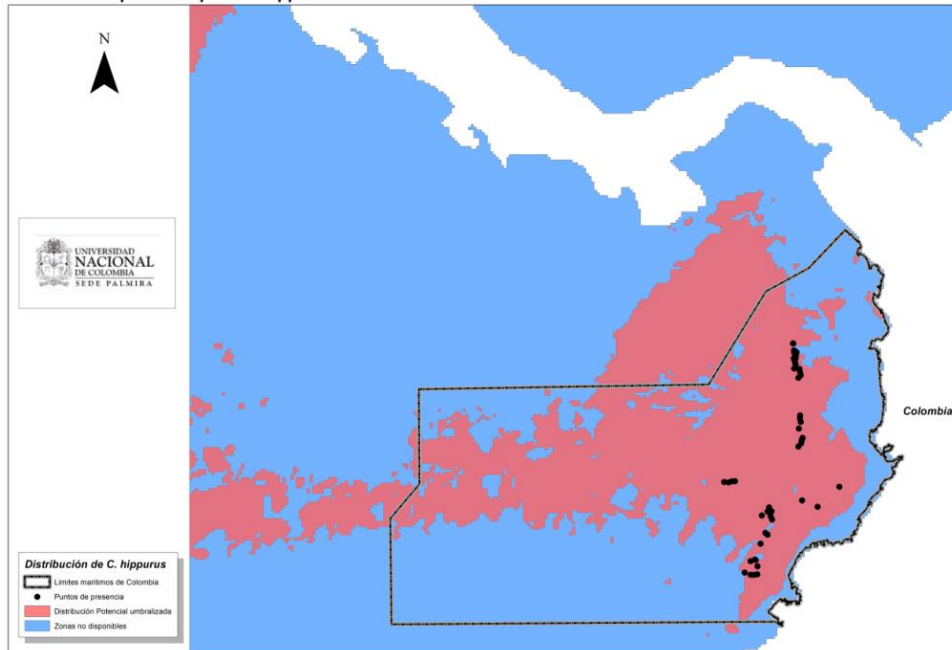
**Figura 4-6:** Distribución potencial (probabilidad de presencia) de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano, en función de variables ambientales (TSM, Chl-a, SLA y batimetría) que afectan su distribución.



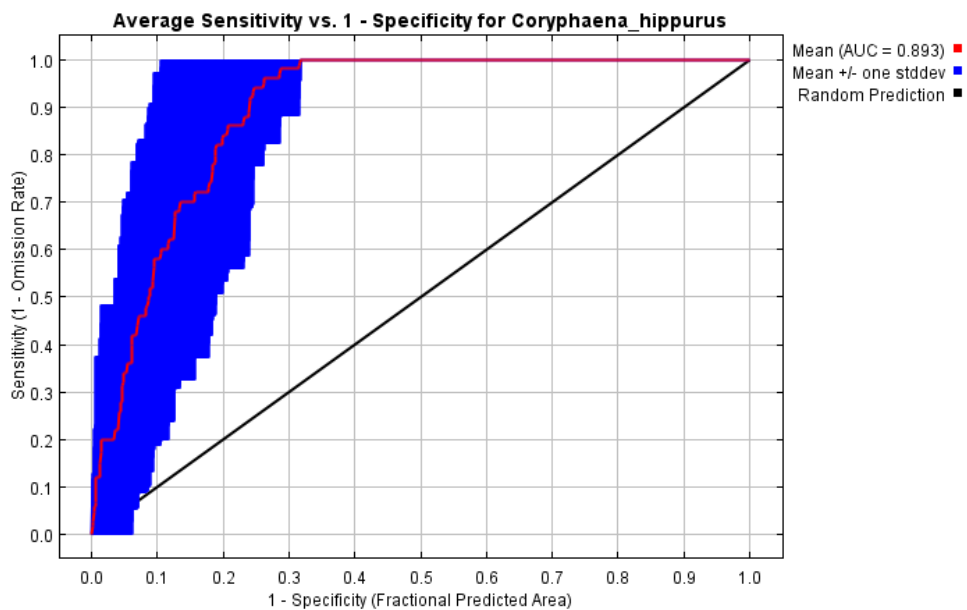


El modelo de predicción generado, mostró un umbral de presencia de 0.3533 y un área bajo la curva de 0.893 (AUC: 0.893) (Figura 4-6), después del ensamblaje de las 25 réplicas indicando una buena fiabilidad (Figura 4-8). Los sitios de muestreo se encuentran en la región de mayor probabilidad de presencia de la especie, lo que demuestra la fiabilidad del modelo generado. Además de los sitios de captura, el dorado presenta otros hábitats en las regiones norte (departamento del Chocó), centro (departamento del Valle del Cauca) y sur (departamento de Nariño) del Pacífico Colombiano, extendiéndose hacia la zona noroeste de la Zona Económica Exclusiva (Figura 4-7). Por lo tanto, otras zonas de la Cuenca Pacífica Colombiana podrían ser utilizadas como áreas de pesca para la especie, optimizando las capturas y luego contribuyendo en la generación de renta a los pescadores y/o como zonas de conservación de la especie.

**Figura 4-7:** Distribución potencial umbralizada de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano, de acuerdo con el modelo de predicción.



**Figura 4-8:** Área bajo la curva (AUC) para el modelo de *C. hippurus* en el Pacífico Colombiano. El gráfico muestra sensibilidad vs especificidad. El área en azul es la desviación estándar después de 25 replicas. La línea en rojo representa (AUC), en letras se muestra el valor de AUC calculado para el modelo.



En los océanos los procesos físicos, químicos y biológicos están estrictamente relacionados (Tang *et al.*, 2002), y la distribución/agregación de especies marinas depende de las características físicas de su entorno, tales como Temperatura Superficial del Mar, concentración de pigmentos fotosintéticos y de parámetros hidrodinámicos como las anomalías del nivel del mar. Sin embargo, en Colombia gran parte de este conocimiento correspondía al resultado de campañas experimentales aisladas que no han permitido establecer patrones medios o situaciones de referencia comparables (Gutiérrez *et al.*, 2012).

#### 4.4 Conclusiones

En el presente trabajo se logró, por primera vez, relacionar la distribución espacial y temporal de las poblaciones de dorado del Pacífico Colombiano, encontradas en ese estudio, con las variables ambientales (Temperatura Superficial del Mar, clorofila-a y anomalías del nivel del mar). Por lo tanto, es posible que las condiciones medioambientales influyan en la estructura genética poblacional del dorado en la Cuenca Pacífica Colombiana.

Se determinó que las variables que más influyen en la distribución de la especie son la TSM y los niveles de Chl-a. Esas variables pueden ser las responsables por generar una discontinuidad oceanográfica entre las regiones de Chocó-Valle del Cauca y Nariño, llevando a la formación de un cuello de botella, por limitar la dispersión de la especie en su zona de distribución, con una disminución del flujo génico y, luego la existencia de dos poblaciones cercanas geográficamente.

A partir de los datos disponibles de las distintas variables fue posible hacer la predicción de su distribución geográfica, estableciendo de este modo, por primera vez, el nicho ecológico para el dorado en la Cuenca Pacífica Colombiana. Los resultados del modelo sugieren que el nicho ecológico para *C. hippurus* se concentra en las regiones norte (Chocó) centro (Valle del Cauca) y sur (Nariño) del Pacífico Colombiano, extendiéndose hacia la zona noroeste de la Zona Económica Exclusiva.

Esos resultados pueden ser utilizados en la definición de áreas de conservación oceánicas y/u objetos de conservación; ejercicio que aún no se ha realizado en el País.

## 5. Conclusiones y recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

Para el análisis de la estructura genética poblacional del dorado (*Coryphaena hippurus* L.) e identificación del nivel de variabilidad genética en el Pacífico Colombiano, inicialmente se definió una metodología no invasiva para extracción de ADN de calidad a partir de muestras de aleta dorsal, que se caracteriza por ser una alternativa ambiental y socio-comercialmente correcta, por evitar el sacrificio animal y no alterar el valor comercial de los peces.

Por primera vez, se identificó la estructura genética poblacional y los niveles de variabilidad genética del dorado, en el Pacífico Colombiano, a través de las secuencias del ADN mitocondrial (ND1). La utilización del ADN mitocondrial permitió la realización de las inferencias cuanto al tiempo de coalescencia de las poblaciones de dorado y al conocimiento de su estructura genética a partir de los procesos históricos, cuando probablemente ocurrió la expansión de la población para el centro/norte del Pacífico Colombiano.

Se evidenció una diferencia significativa entre las muestras colectadas en distintos sitios. A pesar de su relativa cercanía geográfica, se refleja una estructura genética, siendo que los dos sitios de muestreo (Chocó y Valle del Cauca) conforman una población en el Pacífico Colombiano, mientras Nariño, otra población. Por lo tanto, se sugiere que exista un patrón de diferenciación por distancia geográfica.

La más alta diversidad haplotípica y nucleotídica encontrada en Nariño, en comparación con los demás sitios de muestreo, sugiere que esta región pueda tener la población más

antigua y estable de dorado en el Pacífico Colombiano, en concordancia con su tiempo de coalescencia y con la curva de distribución (*Mismatch distribution*) multimodal, respectivamente. La similitud encontrada entre Nariño y Ecuador, cuanto a la curva de distribución multimodal y al tiempo de coalescencia, posiblemente esté relacionada con la conexión favorecida por las condiciones oceanográficas existentes entre esas regiones.

Por su parte, las más bajas diversidades encontradas en Valle del Cauca y Chocó, y los más recientes tiempos de coalescencia, con una curva de distribución (*Mismatch distribution*) unimodal, sugieren que estos sitios pasaron por procesos de colonización recientes y/o efecto fundador. Posiblemente ocasionada por las condiciones oceanográficas de esas regiones.

También por primera vez, se logró relacionar la distribución espacial y temporal de las poblaciones de dorado del Pacífico Colombiano, con las variables ambientales (Temperatura Superficial del Mar, clorofila-a y anomalías del nivel del mar). Por lo tanto, es posible que las condiciones medioambientales influyan en la estructura genética poblacional del dorado en la Cuenca Pacífica Colombiana.

Se determinó que las variables que más influyen en la distribución de la especie son la TSM y los niveles de Chl-a. Esas variables pueden ser las responsables por generar una discontinuidad oceanográfica entre las regiones de Chocó-Valle del Cauca y Nariño, llevando a la formación de un cuello de botella, por limitar la dispersión de la especie en su zona de distribución, con una disminución del flujo génico y, luego la existencia de dos poblaciones cercanas geográficamente.

A partir de los datos disponibles de las distintas variables fue posible hacer la predicción de su distribución geográfica, estableciendo de este modo, por primera vez, el nicho ecológico para el dorado en la Cuenca Pacífica Colombiana. Los resultados del modelo sugieren que el nicho ecológico para *C. hippurus* se concentra en las regiones norte (Chocó) centro (Valle del Cauca) y sur (Nariño) del Pacífico Colombiano, extendiéndose hacia la zona noroeste de la Zona Económica Exclusiva.

Los resultados encontrados en esta investigación son fundamentales para futuras investigaciones genéticas aplicadas a las necesidades de la pesquería artesanal, semi-artesanal e industrial y también a los sectores encargados de la toma política de decisiones, ya que contribuye al conocimiento de la estructura de las poblaciones y la conectividad marina, las cuales son importantes en el diseño e implementación de reservas marinas para la protección de especies amenazadas por la sobreexplotación y la degradación de hábitat.

## 5.2 Recomendaciones

La definición de una metodología adecuada de extracción de ADN de *C. hippurus* L. es un aporte para futuros proyectos de estimación de la variabilidad genética a través de técnicas de biología molecular como la secuenciación; Por lo tanto, los demás proyectos pueden utilizar directamente las aletas de dorado para extracción de ADN en cantidad y calidad adecuados.

Se recomienda la utilización de marcadores moleculares para la inferencia de otros parámetros de la genética poblacional, principalmente asociados a procesos contemporáneos, que puedan estar afectando el dorado en el Pacífico Colombiano.

Las secuencias obtenidas en el presente trabajo pueden ser aprovechadas para otros estudios moleculares, como en la confección de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms* - *Polimorfismo de Nucleotídeo Único*), buscando estudiar las relaciones ancestrales del dorado entre sus las poblaciones distribuídas mundialmente.

Se recomienda la utilización de más datos de la especie para primorear el modelo de nicho obtenido. De igual forma, es importante aplicar el conocimiento del nicho ecológico del dorado en el Pacífico Colombiano para el manejo y conservación de este recurso pesquero. Por lo tanto, esta información debe ser difundida en el medio científico, académico, técnico, especialmente en las comunidades de pescadores artesanales, cooperativas y empresas pesqueras regionales.

### Perspectivas de Manejo

Se ha resaltado la importancia que tiene el obtener datos genéticos de los organismos capturados para proponer stocks. Los resultados de esta investigación pueden servir de base, para medidas de manejo tanto a nivel del estudio global, así como para cada una de las localidades.

La heterogeneidad genética del dorado que develó este estudio, indica que en la Cuenca Pacífica Colombiana las poblaciones no pueden ser vistas como un stock homogéneo. Por consiguiente, es necesario hacer estudios sobre dinámica poblacional para conocer las tasas de reclutamiento y proponer cuotas de captura sostenible por regiones; tomado en cuenta la estructura genética poblacional con el flujo genético restringido entre las localidades y con aislamiento por distancia entre las poblaciones.



## **A. Anexo: Protocolo de Extracción de ADN Total de Tejidos Animales (Protocolo Spin-Column)**

### **PROCEDIMIENTO**

1. Cortar 25 mg de tejido (aleta o músculo) en pequeñas piezas, y coloque en un tubo de micro centrífuga de 1,5 ml. Adicione 180 µl de Buffer ATL.

2. Adicionar 20 µl de proteinasa K. Mezcle a fondo por vortex, e incube a 56°C hasta que el tejido esté completamente lisado. Haga vortex ocasionalmente durante la incubación para dispersar la muestra.

Nota: el tiempo de lisis varía dependiendo del tipo de tejido. La lisis está completa generalmente de 1-3 horas.

3. Hacer vortex por 15 s. Adicione 200 µl de Buffer AL a la muestra, y mezcle a fondo por vortex. Entonces adicionar 200 µl de etanol (96%-100%), y mezcle de nuevo a fondo por vortex.

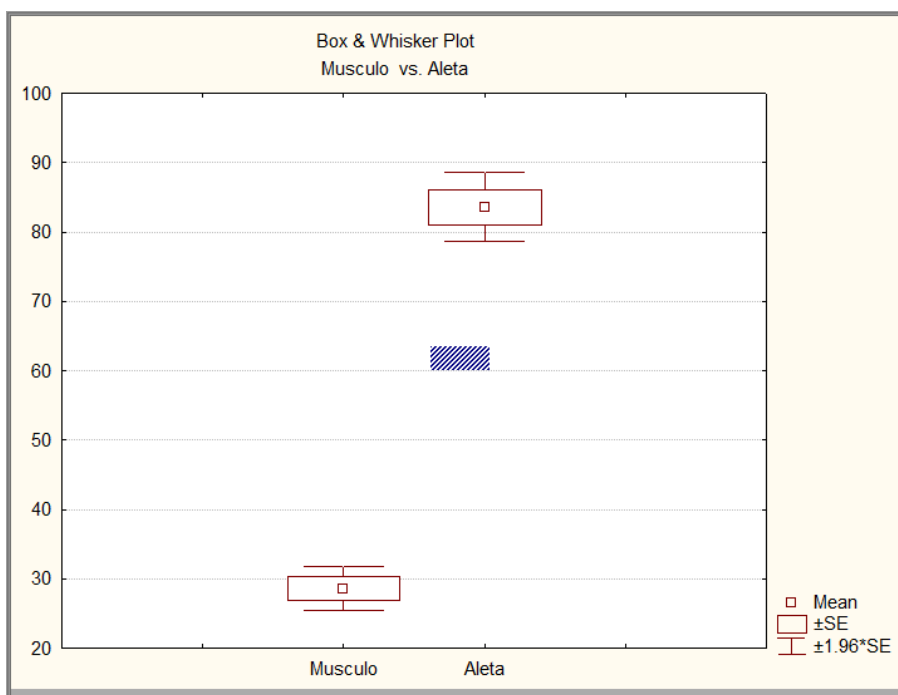
Nota: el buffer AL y el etanol pueden ser premezclados y adicionados juntos en un solo paso para ahorrar tiempo cuando se procesan múltiples muestras.

4. Pipetear la mezcla del paso 3 (incluyendo cualquier precipitado) dentro de la mini spin-column colocado en un tubo de colección de 2 ml. Centrifugar a 8.000 rpm por 1 minuto. Descartar el filtrado y el tubo de colección.

5. Colocar la mini spin-column en un nuevo tubo de colección de 2 ml. Adicionar 500  $\mu$ l de Buffer AW1 y centrifugue por 1 minuto a 8.000 rpm. Descartar el filtrado y el tubo de colección.
  
6. Colocar la mini spin-column en un nuevo tubo de colección de 2 ml. Adicionar 500  $\mu$ l de Buffer AW2, y centrifugue por 4 minutos a 13.200 rpm para secar la membrana. Descartar el filtrado y el tubo de colección.
  
7. Colocar la mini spin-column en un tubo de micro centrífuga de 1,5 ml, y pipetee 100  $\mu$ l de Buffer AE directamente en la membrana. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto y centrifugue por 1 minuto a 8.000 rpm la dilución.

## B. Anexo: Resultado de la Prueba t para muestras independientes

**Figura A.** Bloques de distribución de valores de la Prueba t, considerando los dos tipos de tejidos, músculo y aleta dorsal de *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Colombiano, como muestras independientes, en relación al contenido de ADN extraído (Statistica 12.0).



**Tabla A.** Valores de la Prueba *t* considerando los dos tipos de tejidos, músculo y aleta dorsal (muestras independientes) de *Coryphaena hippurus* en el Pacífico Colombiano, en relación al contenido de ADN extraído (Statistica 12.0).

	Mean	Mean	t-value	df	P	Valid N	Valid N	Std dv	Std dv	F ratio	p	Sign level
Músculo vs aleta	28.60000	83.60000	-18.2457	48	0.000000	25	25	8.231039	12.62603	2.353014	0.040931	*

\*significativo; \*\*altamente significativo

**C. Anexo: Frecuencia de ocurrencia de todos los haplotipos identificados en *Coryphaena hippurus* para el ADN mitocondrial (ND1) por localidad geográfica muestreada**

HAPLOTIPO	CHOCÓ	VALLE DEL CAUCA	NARIÑO
Chip1			1
Chip 2			1
Chip 3			1
Chip 4			1
Chip 5			1
Chip 6			1
Chip 7		1	
Chip 8	1		
Chip 9			1
Chip 10			1
Chip 11			1
Chip 12			1
Chip 13			1

---

Chip 14	2		
Chip 15	2	1	
Chip 16	1		
Chip 17		1	
Chip 18		1	
Chip 19			1
Chip 20	1		
Chip 21			1
Chip 22	1		
Chip 23	1		
Chip 24		1	
Chip 25	1		
Chip 26	1		
Chip 27			1
Chip 28			1
Chip 29	1		
Chip 30	1		
Chip 31			1
Chip 32	1		
Chip 33	6	4	3
Chip 34	1		
Chip 35	1		
Chip 36		1	
Chip 37	1		
Chip 38	1		

---

Chip 39	1		
Chip 40	1		
Chip 41	1		
Chip 42	1		
Chip 43	1		
Chip 44	1	2	1
Chip 45	1		
Chip 46	1		
Chip 47	1		
Chip 48	1		
Chip 49	5		
Chip 50	2		
Chip 51	2		
Chip 52		1	
Chip 53	10	1	
Chip 54	1		
Chip 55	1		
Chip 56	1		
Chip 57	1		
Chip 58	3	1	1
Chip 59	1		
Chip 60	1		
Chip 61	2	1	
Chip 62		1	1
Chip 63	1		
Chip 64			1

---

Chip 65	1		
Chip 66	1		
Chip 67	1		
Chip 68		1	
Chip 69		1	
Chip 70		1	
Chip 71	1		
Chip 72	1		
Chip 73	1		
Chip 74	1		
Chip 75			1
Chip 76		1	
Chip 77	1		
Chip 78	1		
Chip 79	1		
Chip 80	1		
Chip 81	1		
Chip 82	1		
Chip 83	3		
Chip 84	1		
Total	82	21	24



**D. Anexo: Datos de la ubicación (latitud/ longitud) de las localidades geográficas muestreadas y de las variables ambientales (TSM, Chl-a y SLA) obtenidas por localidad.**

TUMACO					
FECHA	LONGITUD	LATITUD	CLOR	TSM	SLA
19/08/2010	-78,288611	3,174440	0,2889	25,8700	3,583218
25/08/2010	-77,971111	3,465830	0,5255	27,5900	4,779788
01/10/2010	-79,021111	2,765833	0,2816	27,0100	0,314716
26/10/2010	-79,269167	2,380000	0,6411	25,5800	-0,419175
27/10/2010	-79,205278	2,402500	0,5366	25,8200	2,891573
27/10/2010	-79,205278	2,402500	0,5366	25,8200	2,891573
28/10/2010	-79,197222	2,396389	0,6541	25,9600	0,744288
04/11/2010	-79,170278	2,304722	0,2215	25,8300	0,416864
05/11/2010	-79,054167	2,793333	0,3004	26,0100	0,190161
05/11/2010	-79,054167	2,793333	0,3004	26,0100	0,190161
05/11/2010	-79,054167	2,793333	0,3004	26,0100	0,190161
17/11/2010	-79,170833	2,187222	0,3376	26,0300	-0,371521
29/11/2010	-78,515833	3,267222	0,2655	25,3300	-1,04269
27/01/2011	-79,124167	2,634167	0,2591	26,0900	-4,959627
03/02/2011	-79,270000	2,181111	0,5141	28,6800	-3,271015
03/02/2011	-79,218056	2,181111	0,3189	27,7800	-3,271015
03/02/2011	-79,354167	2,212222	0,4511	27,1800	-3,271015
04/02/2011	-78,963056	3,108056	0,4012	25,8800	-7,674632
04/02/2011	-78,999444	3,166111	0,2863	25,7500	-8,810171
04/02/2011	-78,955833	2,989167	0,1937	26,9100	-6,68434

04/02/2011	-79,022500	3,103333	0,2344	25,7600	-7,686501
04/02/2011	-79,106667	3,046389	0,5608	25,8000	-7,194368
04/02/2011	-78,976389	3,036667	0,2282	26,4700	-7,152615

<b>VALLE DEL CAUCA</b>					
<b>FECHA</b>	<b>LONGITUD</b>	<b>LATITUD</b>	<b>CLOR</b>	<b>TSM</b>	<b>SLA</b>
22/11/2009	-78,564310	4,316707	0,1807	27,0600	6,9900
22/11/2009	-78,546337	4,509788	0,1676	26,8100	6,7600
22/11/2009	-78,547910	4,466000	0,1861	26,9700	6,7700
22/11/2009	-78,535283	4,414115	0,5838	26,6500	6,7600
21/11/2009	-78,569742	4,055522	0,1709	26,9400	6,2900
21/11/2009	-78,508765	4,182047	0,1807	26,8400	5,7900
21/11/2009	-78,521639	4,144438	0,5838	26,8524	5,8300
21/11/2009	-78,529855	4,105458	0,5838	26,8524	5,9100
13/11/2009	-79,656576	3,536511	0,5838	26,7900	11,7700
13/11/2009	-79,497745	3,549182	0,5838	27,0300	11,9400
13/11/2009	-79,543228	3,545830	0,5838	26,6600	11,8300
13/11/2009	-79,591802	3,530462	0,5838	26,7200	11,7900

<b>CHOCÓ</b>					
<b>FECHA</b>	<b>LONGITUD</b>	<b>LATITUD</b>	<b>CLOR</b>	<b>TSM</b>	<b>SLA</b>
24/11/2009	-78,630577	5,195110	0,1559	27,5600	9,6000
24/11/2009	-78,639220	5,344140	0,1548	27,5000	9,4100
24/11/2009	-78,625540	5,302357	0,1559	27,5900	9,5300
24/11/2009	-78,611015	5,257170	0,1538	27,6200	9,5100
25/11/2009	-78,631712	5,428097	0,2019	27,0700	8,8100
25/11/2009	-78,644612	5,561358	0,2295	25,1700	8,6100
25/11/2009	-78,649786	5,563563	0,2163	26,8000	8,6100
25/11/2009	-78,633486	5,462093	0,5838	26,8524	8,7800
23/11/2009	-78,569717	5,058698	0,1649	27,9900	7,8600
23/11/2009	-78,553595	5,188868	0,1728	28,1400	8,0000
23/11/2009	-78,547467	5,144907	0,1615	28,3200	7,8800
23/11/2009	-78,536948	5,098795	0,1793	28,2100	7,6900
26/11/2009	-78,621844	5,296457	0,5838	26,8524	9,5400
26/11/2009	-78,597837	5,434365	0,2019	25,7000	9,3100
26/11/2009	-78,607296	5,389923	1,5570	26,8524	9,3800
26/11/2009	-78,610781	5,345642	0,5838	26,8524	9,4300

## E. Anexo: Matriz de integración de los datos genéticos (haplotipos) con los datos de las variables ambientales (TSM, Chl-a y SLA) obtenidos por localidad geográfica muestreada

Individuo	Código Haplotipo	CLOR-A	TSM	SLA	Región
DL88	Chip44c	0,5838	26,8002	11,8325	VALLE
DL98	Chip15c	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL160	Chip25	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL79	Chip33k	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL128	Chip44a	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL158	Chip45	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL130	Chip49a	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL133	Chip51a	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL102	Chip53a	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL105	Chip53b	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL129	Chip53e	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL132	Chip53f	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL21	Chip53j	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL99	Chip55	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL134	Chip57	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL101	Chip58a	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL131	Chip59	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL135	Chip60	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO

DL13	Chip66	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL77	Chip67	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL82	Chip72	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL103	Chip78	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL104	Chip79	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL45	Chip8	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL83	Chip84	0,1551	27,5675	9,5125	CHOCO
DL49	Chip30	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL3	Chip33g	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL95	Chip33m	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL2	Chip37	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL41	Chip38	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL25	Chip46	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL96	Chip49e	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL123	Chip53d	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL19	Chip53i	0,7316	26,5643	9,415	VALLE
DL4	Chip54	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL122	Chip61b	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL75	Chip65	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL80	Chip71	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL1	Chip77	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL124	Chip83a	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL76	Chip83c	0,7316	26,5643	9,415	CHOCO
DL10	Chip14a	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL30	Chip14b	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL6	Chip16	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL29	Chip29	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL120	Chip35	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL11	Chip41	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL38	Chip42	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL18	Chip49c	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL8	Chip49d	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL121	Chip50a	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL119	Chip53c	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL7	Chip53k	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL97	Chip58e	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL118	Chip61a	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL39	Chip63	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO
DL5	Chip74	0,3079	26,4731	8,7025	CHOCO

DL145	Chip15b	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL162	Chip20	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL50	Chip22	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL155	Chip23	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL46	Chip26	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL22	Chip32	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL138	Chip33b	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL143	Chip33d	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL154	Chip33e	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL149	Chip34	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL163	Chip39	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL151	Chip40	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL148	Chip43	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL153	Chip47	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL47	Chip48	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL136	Chip49b	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL142	Chip50b	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL85	Chip51b	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL140	Chip53g	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL152	Chip53h	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL137	Chip56	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL161	Chip58c	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL147	Chip73	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL139	Chip80	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL144	Chip81	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL150	Chip82	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL51	Chip83b	0,1696	28,165	7,8575	CHOCO
DL113	Chip15a	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL34	Chip17	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL36	Chip18	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL109	Chip33a	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL14	Chip33c	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL16	Chip33f	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL35	Chip33h	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL115	Chip52	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL116	Chip58b	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL117	Chip62a	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL110	Chip68	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL37	Chip69	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE

DL15	Chip7	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL108	Chip70	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL114	Chip76	0,2796	26,8725	6,8201	VALLE
DL126	Chip24	0,3798	26,8712	5,9551	VALLE
DL81	Chip36	0,3798	26,8712	5,9551	VALLE
DL20	Chip44b	0,3798	26,8712	5,9551	VALLE
DL125	Chip61c	0,3798	26,8712	5,9551	VALLE
DL90	Chip64	0,5255	27,59	4,779788	TUMACO
DL89	Chip44d	0,2889	25,87	3,583218	TUMACO
DL71	Chip19	0,5366	25,82	2,891573	TUMACO
DL92	Chip75	0,5366	25,82	2,891573	TUMACO
DL53	Chip33i	0,6541	25,96	0,744288	TUMACO
DL54	Chip9	0,2215	25,83	0,416864	TUMACO
DL91	Chip33l	0,2816	27,01	0,314716	TUMACO
DL55	Chip2	0,3004	26,01	0,190161	TUMACO
DL60	Chip31	0,3004	26,01	0,190161	TUMACO
DL94	Chip58d	0,3004	26,01	0,190161	TUMACO
DL57	Chip6	0,6411	25,58	-0,419175	TUMACO
DL61	Chip33j	0,2655	25,33	-1,04269	TUMACO
DL73	Chip1	0,4511	27,18	-3,271015	TUMACO
DL56	Chip10	0,3189	27,78	-3,271015	TUMACO
DL93	Chip62b	0,5141	28,68	-3,271015	TUMACO
DL63	Chip27	0,2591	26,09	-4,959627	TUMACO
DL69	Chip12	0,1937	26,91	-6,68434	TUMACO
DL72	Chip5	0,1937	26,91	-6,68434	TUMACO
DL58	Chip13	0,2282	26,47	-7,152615	TUMACO
DL68	Chip11	0,5608	25,8	-7,194368	TUMACO
DL67	Chip3	0,5608	25,8	-7,194368	TUMACO
DL66	Chip4	0,4012	25,88	-7,674632	TUMACO
DL62	Chip21	0,2344	25,76	-7,686501	TUMACO
DL65	Chip28	0,2863	25,75	-8,810171	TUMACO

## F. Anexo: Uso de Maxent para modelar la distribución natural potencial de dorado en el Pacífico Colombiano

### PROCEDIMIENTO:

1. Importar en Maxent el archivo dorado.csv con los puntos de presencia en la ventana *Samples*.
2. Importar en Maxent las capas climáticas en formato ASCII (\*.asc) utilizando la opción *Environmental layers*.
3. Maxent genera un raster de la distribución potencial. Con la opción *Output file type* se pueden seleccionar diferentes tipos de archivos de resultados, pero se recomienda usar el archivo de tipo ASCII (\*.asc).
4. En la ventana *Output directory*, seleccionar la ubicación (ruta del archivo o directorio) donde se van a grabar los resultados de la modelación.
5. Deshabilitar la opción *Make pictures of predictions* y mantener todas las otras opciones por defecto.
6. Vaya a la pestaña *Settings* para modificar los parámetros. La opción *Settings* nos permite modificar las condiciones en las que Maxent genera el modelo de distribución potencial. Un parámetro relevante para este análisis es la opción *Remove duplicate presence records*, encontrada bajo la pestaña *Basic*.
7. La opción *Remove duplicate presence records* permite eliminar del análisis los puntos de presencia duplicados en una celda raster para reducir los sesgos del muestreo, que favorecerían las condiciones climáticas de esos sitios donde se concentró el muestreo.

Para este análisis, revise que esta opción esté habilitada y que las otras configuraciones básicas correspondan a la impresión de pantalla que se muestra a continuación.

8. Después de modificar la opción *Settings*, regrese a la ventana principal. Haga clic em *Run* para empezar a calcular el área potencial de la especie.

### **Resultados con Maxent**

Los resultados se graban en la carpeta seleccionada en el recuadro *Output Directory*. Uno de los archivos grabados es un documento HTML, que resume todos los resultados. El análisis de los parámetros más importantes se describe brevemente a continuación.

9. Abra el documento HTML *dorado* con su navegador de internet (como *Firefox*, *Chrome* o *Internet Explorer*).

10. La tasa de omisión es una estadística que indica el rendimiento del modelo. La matriz *Omission and Predicted Area* consta de tres líneas:

. *Omission on training samples* (línea azul) muestra las fracciones de los puntos de presencia ubicados por fuera del área potencial con base en el modelo de Maxent (*Fraction value*) por los valores del umbral de probabilidad (de bajo a alto) que limita el área predicha (*Cumulative threshold*);

. *Training samples* (muestras de entrenamiento) se usa como sinónimo de “puntos de presencia”.

. *Fraction of background predicted* (línea roja) muestra las fracciones de los puntos de fondo (aleatorios) del área de estudio incluidos en el área predicha, usando diferentes umbrales acumulativos (*Cumulative thresholds*).

. *Predicted omission* (línea negra) es una línea de referencia.

Si la línea azul (*Omission on training samples*) aparece bien abajo de la línea de referencia (*Predicted omission*), es posible que el modelo se haya sobreajustado (*overfitting*) por dependencia entre los puntos (Phillips *et al.*, 2006).



11. Uno de los parámetros utilizados para evaluar la capacidad de predecir de los modelos generados por Maxent es el Área por Debajo de la Curva (AUC, de su nombre en inglés) de la curva de Característica Operativa Relativa (ROC, de su nombre en inglés). La fracción del área predicha (*Fractional predicted area*) en el eje-x se refiere a la fracción del área total de estudio donde se está modelando La especie, mientras que la sensibilidad (*Sensitivity*) en el eje-y se refiere a la proporción de puntos de presencia dentro del área de ocurrencia predicha en relación con el número total de puntos de presencia (Phillips *et al.*, 2006). El AUC es equivalente a la probabilidad de que un punto de presencia seleccionado al azar esté ubicado en una celda del raster con un valor de probabilidad mayor para la ocurrencia de la especie que un punto de ausencia seleccionado al azar.

La modelación de la distribución de especies con este programa incluye solamente puntos de presencia. Aún así, para poder calcular el AUC, Maxent reemplaza los puntos de ausencia con puntos del área de estudio generados aleatoriamente. El AUC se puede entonces interpretar como la mayor probabilidad de que un punto de presencia seleccionado aleatoriamente este ubicado en una celda del raster con un alto valor de probabilidad para la presencia de la especie que un punto generado aleatoriamente (Phillips *et al.* 2006).

La mayor capacidad de predecir de un modelo generado por Maxent se alcanza cuando el AUC tiene un valor de 1. Este sería el caso si todos los puntos de presencia tienen una mayor probabilidad que los puntos generados aleatoriamente. En la práctica, ningún AUC será inferior a 0.5. En este caso, las celdas del raster en las que están ubicados los puntos de presencia no tienen valores de probabilidad mayores que las celdas del raster donde están ubicados los puntos generados aleatoriamente y el modelo generado por Maxent no tiene ninguna capacidad de predecir. Esta situación se refleja en el gráfico en la línea de referencia *Random Prediction*.

Araújo y New (2007) recomiendan la siguiente interpretación del AUC para los modelos generados: Excelente si  $AUC > 0.90$ ; Buena si  $0.80 > AUC < 0.90$ ; Aceptable si  $0.70 > AUC < 0.80$ ; Mala si  $0.60 > AUC < 0.70$ ; No válida si  $0.50 > AUC < 0.60$ .

La solidez del modelo desarrollado por Maxent se puede validar usando uno de los métodos disponibles en la opción *Replicate run type* bajo la pestaña *Basic*.

---

## Bibliografía

AGUILAR-PALOMINO, B.; GALVÁN-MAGAÑA, F.; CÁRDENAS, A.; MELO, A.; ROMERO, J. 1998. Aspectos alimentarios del dorado *Coryphaena hippurus* LINNAEUS, 1758 en Cabo San Lucas, Baja California Sur-México. Ciencias Marinas. 24 (3); 253-265.

ANADÓN, R.; TABOADA, F.G. 2012. Climatic Change. Doi: 10.1007/s10584-012-0485-6.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K; WATSON, J. D. 1994. Molecular biology of the cell (3rd ed.). Garland Pub. Inc., New York.

ALEJO-PLATA, C.; DÍAZ-JAIMES, P.; SALGADO-UGARTE, I. H. 2011. Sex ratios, size at sexual maturity and spawning seasonality of dolphinfish *Coryphaena hippurus* captured in the Gulf of Tehuantepec, Mexico. Fish. Res. 110: 207-216.

ALLAN, J.D.; ABELL, R.; HOGAN, Z.E.B.; REVENGA, C.; TAYLOR, B.W.; WELCOMME, R.L.; WINEMILLER, K. 2005. Overfishing of inland waters. Bio Science, 55: 1041–1051.

ALMEIDA, D. B.; SANTOS, A. G.; COSTA, M. A. P.; OLIVEIRA, P. A.; BASSINI, L. N.; MOREIRA, C.G.A; TAVARES, R. A.; MOREIRA, H. L. M. In:XVIII CIC XI ENPOS I MOSTRA CIENTÍFICA, Pelotas, 20 a 23 de outubro de2009.

ALVARADO-BREMER, J.R.; STEQUERT, B.; ROBERTSON, N.W.; ELY, B. 1998. Genetic evidence for inter-oceanic subdivision of big eye tuna (*Thunnus obesus*) populations. Marine Biology: 132(4): 547–557.

APPLEYARD, S.A.; GREWE, P.M.; INNES, B.H.; WARD, R.D. 2001. Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western Pacific Ocean, inferred from microsatellite loci. *Marine Biology*: 139, 383–393.

ARANISHI, F. 2006. Single fish egg DNA extraction for PCR amplification. *Conservation Genetics* 7:153-156.

ARAÚJO, M.B.; NEW, M. 2007. Ensemble forecasting of species distributions. *Trends in Ecology & Evolution* 22: 42-47.

AROCHA, F.; MARCANO, L.A.; LAREZ, A.; ALTUVE, D.; ALIO, J. 1999. The fishery, demographic size structure and oocyte development of dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, in Venezuela and adjacent waters. *Sci. Mar.* 63(3–4): 401–409.

AVISE, J.C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

AYRE, D.J.; MINCHINTON, T.E.; PERRIN, C. 2009. Does life history predict past and current connectivity for rocky intertidal invertebrates across a marine biogeographic barrier? *Mol. Ecol.* 18, 1887–1903.

BAOS-ESTUPIÑÁN, R. A. 2013. Notas biológico pesqueras del dorado *Coryphaena hippurus* en la temporada 2010-2013 en el Pacífico Colombiano. XV SENALMAR: Cartagena, Colombia. p 173.

BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; RÖHL. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16, 37–48.

BEARDSLEY, G.L. 1967. Age, growth and reproduction of the dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, in the Straits of Florida. *Copeia*. p 441-451.

BELLWOOD, D.R.; HOEY, A.S.; CHOAT, J.H. 2003. Limited functional redundancy in high diversity systems: resilience and ecosystem function on coral reefs. *Ecology Letters* 6(4): 281–285.

---

BERMINGHAM, E.; MCCAFFERTY, S.S.; MARTIN, A.P. 1997. Fish biogeography and molecular clocks: perspectives from the Panamanian isthmus. In: KOCHER, T.D., STEPIEN, C.A. (Eds.), *Molecular Systematics of Fishes*. Academic Press, San Diego, pp. 113–128.

BOBADILLA-JIMÉNEZ, M. 2007. Estructura genética del pez dorado (*Coryphaena hippurus*) en distintas escalas geográficas del Pacífico Nororiental. Tesis. 83 p. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. México.

BORGES, R. C.; OLIVEIRA, A.; BERNARDO, N.; COSTA, R. M. M. C. 2006. Diagnóstico da fauna silvestre apreendida e recolhida pela Polícia Militar de meio ambiente de Juiz de Fora. *Revista Brasileira de Zootecias*, 8 (1): p.23-33.

BORTOLOTTI, E.; BUCKLIN, A.; MEZZAVILLA, M.; ZANE, L.; PATARNELLO, T. 2011. Gone with the currents: lack of genetic differentiation at the circum-continental scale in the Antarctic krill *Euphausia superba*. *BMC Genetics*. 12: 32.

BRIAN, J.V.; FERNANDES, T.; LADLE, R.J.; TODD, P.A. 2006. Patterns of morphological and genetic variability in UK populations of the shore crab, *Carcinus maenas* Linnaeus, 1758 (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 329: 47-54.

CACHO, I.; GRIMALT, J. O.; CANALS, M. 2002. Response of the western Mediterranean Sea to rapid climate variability during the last 50,000 years: A molecular biomarker approach. *J. Mar. Syst.* 33, 253–272.

CACHO, I.; GRIMALT, J. O.; PELEJERO, C.; CANALS, M.; SIERRA, F.J.; FLORES, J.A.; SHACKLETON, N.J., 1999. Dansgaard-Oeschger and Heinrich event imprints in Alboran Sea temperatures. *Paleoceanography* 14, 698–705.

CAMPOS, J. A.; SEGURA, A.; LOZANO, O.; Y MADRIGAL, E. 1993. Ecología básica de *Coryphaena hippurus* (Pisces, Coryphaenidae) y abundancia de grandes pelágicos en el Pacífico de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 41(3): 783-790.

CANTERA, J. Oceanografía. {En línea}. {10 agosto de 2012} disponible en: (<http://www.banrepcultural.org/blaavirtual/faunayflora/pacific1/indice.htm>).

CARLSSON, J.; MCDOWELL, J.R.; DIAZ-JAIMES, P.; CARLSSON, J.E.L.; BOLES, S.B.; GOLD, J.R.; GRAVES, J.E. 2004. Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic blue fin tuna (*Thunnus thynnus*) population structure in the Mediterranean. *Sea Molecular Ecology*: 13, 3345–3356.

CASTRESANA, J. 2000. Selección de bloques conservados de múltiples alineaciones para su uso en el análisis filogenético. *Molecular Biology and Evolution* v. 17, p.540-552.

CASTILLO-OLGUÍN, E.; URIBE-AICOCER, M.; DÍAZ-JAIMES, P. 2012. Assessment of the population genetic structure of *Sphyrna lewini* to identify conservation units in the Mexican Pacific. *Ciencias Marinas*, Vol 38, No 4 (2012).

CCCP, 2002. Compilación oceanográfica de Cuenca Pacífica colombiana. DIMAR – Centro Control Contaminación Pacífico (CCCP). 107p.

CCI, 2011. Pesca y Acuicultura Colombia 2010. “Informe Técnico Regional Litoral Caribe y Pacífico”. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá, Colombia, 97p.

CHAVEZ, F.P.; RYAN, J.; LUCH-COTA, S.E.; ÑIQUEN, M. 2003. From anchovies to sardines and back: multidecadal change in the Pacific Ocean. *Science* 299: 217-221.

CIMMARUTA, R.; IACONELLI, M.; NASCETTI, G.; BULLINI, L. 1998. Genetic diversity in Mediterranean large pelagic fish populations. *Biología Marina Mediterranea* 5(3): 300-310.

CNDM. 2008. Uso Sostenible de los Recursos Pesqueros del “CMAR” en Colombia. {En línea}{10 abril de 2013} disponible en: (<http://www.cndm.gov.ec/docs>).

DAWSON, M.N.; STATON, J.L.; JACOBS, D.K. 2001. Phylogeography of theta dewater goby, *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei, Gobiidae), in coastal California. *Evolution* 55(6): 1167–1179.

DAGSPUTA, S; SINGH, R.P; KAFATOS, M. 2009. Comparison of global chlorophyll concentrations using MODIS data. *Advances in Space Research* 43: 1090–1100.

DÍAZ, J.M.; VIEIRA, C.A.; MELO, G.J. (EDS). 2011. Diagnóstico de las principales pesquerías del Pacífico colombiano. Fundación Marviva – Bogotá, Colombia, 242 p.

DÍAZ-JAIMES, P; URIBE-ALCOCER, M.; ORTEGA-GARCÍA, S.; JEAN-DOMINIQUE, D. 2006. Spatial and Temporal Mitochondrial DNA genetic homogeneity of dolphinfish populations (*Coryphaena hippurus*) in the eastern central Pacific. *Fisheries Research*, 80 (2006):333–338.

DÍAZ-JAIMES, P.; URIBE-ALCOCER, M.; ROCHA-OLIVARES, A.; GARCÍA-DE-LEÓN, F.J.; NORTMOON, P.; DURAND, J.D. 2010. Global phylogeography of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*): The influence of large effective population size and recent dispersal on the divergence of a marine pelagic cosmopolitan species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*: 57 (2010) 1209–1218.

DITTY, J. R.; SHAW, C.; GRIMES, J.; COPE. 1994. Larval development, distribution, and abundance of common dolphin, *Coryphaena hippurus*, and pompano dolphin, *C. equiselis* (family: Coryphaenidae), in the northern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin*, 92(2): 275-291.

DOWER, J.; LEGGETT, W.; FRANK, K.; 2000. Commentary: Improving in the future. En Parson T, Harrison P (Eds.) *Fisheries Oceanography, an Integrative Approach to Fisheries and Ecology and Management*. Blackwell. Oxford, RU. P. 263 – 281.

DUDA, T.; LESSIOS, H. 2009. Connectivity of populations within and between major biogeographic regions of the tropical Pacific in *Conus ebraeus*, a widespread marine gastropod. *Coral Reefs* 28: 651–659.

EMERSON, B.C., 2007. Alarm bells for the molecular clock? No support for Ho et al's model of time-dependent molecular rate estimates. *Syst. Biol.* 56, 337–345.

EPIFANIO, C.; GARVINE, R. 2001. Larval transport on the Atlantic continental shelf of North America: a review. *Est. Coast. Shelf Sci.* 52:51–77

- ERDMAN, D. S. 1956. Recent fish records from Puerto Rico. B. Mar. Sci. 6: 315-348.
- ESTUPIÑÁN, R.A.B.; ZAPATA, L.A. 2011. Análisis de la flota pesquera industrial del Pacífico colombiano radicada en el puerto de Buenaventura durante los años de 2006 a 2009. En: Díaz, J.M.; Vieira, C.A.; Melo, G.J. (EDS). Diagnóstico de las principales pesquerías del Pacífico colombiano. Fundación Marviva – Colombia, Bogotá, pp 31-48.
- FAO 2007. Estado mundial de la pesca y de la acuicultura. {En línea}. {10 julio de 2012} disponible en: (<http://www.fao.org>).
- FAO 2011. Perfiles sobre la pesca y la acuicultura por países. {En línea}. {10 julio de 2012} disponible en: (<http://www.fao.org/fishery/facp/ECU/es>).
- FAO 2012. Estado mundial de la pesca y de la acuicultura. {En línea}. {10 julio de 2012} disponible en: (<http://www.fao.org>)
- FARRELL, E. R.; HALPIN, P. 2009. The Habitat, Movements, and Management of Dolphin, *Coryphaena hippurus*, in the Western North Atlantic, Caribbean and Gulf of Mexico. Tesis: Master of Environmental Management degree in the Nicholas School of the Environment of Duke University. 59 pp.
- FISHER, W.; KRUPP, F.; SCHNEIDER, W.; SOMMER, C.; CARPENTER, K.E. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la Pesca. Pacífico Centro-Oriental. Volumen II. Vertebrados-Parte I. Roma-Italia. 647-1200 p.
- FOSTER, S. J.; VINCENT, A. C. J. 2004. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. Journal of Fish Biology 65, 161pp, 2004. doi:10.1111/j.1095-8649.2004.00429.
- FREELAND, J.R. 2005. Molecular ecology. John Wiley & Sons, Ltd., London, United Kingdom. 388 pp.
- FRIEDRICHS, M.; CARR, M.E.; BARBER, R. 2009. Assessing the uncertainties of model estimates of primary productivity in the tropical Pacific Ocean. J. Mar. Syst. 76: 113–133.



FRIGOLA, J.; MORENO, A.; CACHO, I.; CANALS, M.; SIERRA, F.; FLORES, J.; GRIMALT, J.; HODELL, D.; CURTIS, J., 2007. Holocene climate variability in the western mediterranean region from a deepwater sediment record. *Paleoceanography* 22, 1–16.

FU, Y., 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147, 915–925.

GALARZA, J.; CARRERAS-CARBONELL, J.; MACPHERSON, E.; PASCUAL, M.; ROQUES, S.; TURNER, G.; CIRO, R., 2009a. The influence of oceanographic fronts and early-life-history traits on connectivity among littoral fish species. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 106, 1473–1478.

GALARZA, J.A.; TURNER, G. F.; MACPHERSON, E.; RICO, C., 2009b. Patterns of genetic differentiation between two co-occurring demersal species; the Red mullet (*Mullus barbatus*) and the Striped red mullet (*Mullus surmuletus*) from the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. *Canad. J. Aquat. Sci.* 66, 1478–1490.

GALINDO, H.M.; OLSON, D.B.; PALUMBI, S.R. 2006. Seascape genetics: A coupled oceanographic genetic model predicts population structure of Caribbean corals. *Current Biology* 16:1,622–1,626.

GALVÁN-TIRADO, C. 2007. Biología reproductiva del tiburón aleta de cartón *Carcharhinus falciformis* capturado en el Golfo de Tehuantepec. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. UNAM. México.

GARCIA, V.H. 2010. Comparação de protocolos de extração de DNA em diferentes tecidos de peixe-rei para a análise de marcadores moleculares. XII ENPOS. II Mostra Científica. Pelotas, 2010.

GAWARKIEWICZ, G.; MONISMITH, S.; LARGIER, J. 2007. Observing larval transport processes affecting population connectivity: progress and challenges. *Oceanography* 20:40–53.

GILG, M.R.; HILBISH, T.J. 2003. The geography of marine larval dispersal: coupling genetics with fine-scale physical oceanography. *Ecology* 84, 2989–2998.

GIRALDO, A.; PAYÁN, L.; CHIRIMÍA, H. 2010. Variabilidad térmica en el Ambiente Pelágico de la Isla Gorgona entre Marzo 2009 – Febrero 2010. XIV Seminário Nacional de Ciencia y Tecnologías del Mar: Cali, 2010. 79-80 p.

GNANASEELAN, C.; VAID, B.H. 2010. Interannual variability in the Biennial Rossby Waves in the tropical Indian Ocean and its relation to Indian Ocean Dipole and El Niño forcing. *Ocean Dynamics* 60, 27 – 40. doi: 10.1007/s10236-009-0236-z

GOMES, P.C. 2007. Diversidade genética de três populações de piapara (*Leporinus elongatus*), utilizando marcadores moleculares. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil. 75 p.

GRAVES, J. E.; MCDOWELL, J. R. 2001. A genetic perspective on the stock structures of blue marlin and white marlin in the Atlantic Ocean. Colección de Documentos Científicos. Comisión internacional para la Conservación del Atún Atlántico 53:180-187.

GRAVES, J.E., 1998. Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. *Journal of Heredity*: 89 (5), 427–437.

GREGG, E. J.; BODTKER, K. M. 2007. Adaptive classification of marine ecosystems: identifying biologically meaningful regions in the marine environment. *Deep-Sea Research II* 54: 385-402.

GUTIÉRREZ, E. J.; BERNAL, A. M.; DÍAZ, Y.; PUENTES, V. 2012. Análisis integral de la pesquería de dorado (*Coryphaena hippurus*) en el océano pacífico colombiano en el contexto del Corredor Marino del Pacífico Este Tropical -CMAR-. En: Puentes V. y Moncaleano A. (Eds). Sistema de Gestión Regional para el Uso Sostenible de los Recursos Pesqueros del Corredor Marino del Pacífico Este Tropical (CMAR). Resultados de Gestión en Colombia. Bogotá.

GUZMAN, A.I.; SELVARAJ, J.J.; MARTINEZ, A. 2010. Variación de la Temperatura Superficial del Mar, Clorofila “A” y su Relación con capturas de dorado (*Coryphaena hippurus*) en la costa pacífica colombiana. Anais do III Congresso Brasileiro de Oceanografia – CBO’2010, Rio Grande (RS), p260-261.

HAN, W.; WEBSTER, P.J. 2002. Forcing mechanisms of sea level interannual variability in the Bay of Bengal. *Journal of Physical Oceanography* 32, 216 – 239.

HAUSER, L.; CARVALHO, G. R. 2008. Paradigm shifts in marine fisheries genetics: ugly hypotheses slain by beautiful facts. *Fish and Fisheries*, 2008, 9, 333–362.

HASSLER, W. W.; HOGARTH, W.T. 1977. The growth and culture of dolphin, *Coryphaena hippurus*, in North Carolina. *Aquaculture*, 12:115–122.

HERRERA, M.; COELLO, D.; PERALTA, M.; CAJAS, J.; CHAVARRÍA, J. 2008. Pesca exploratoria del recurso dorado *Coryphaena hippurus* frente a la costa ecuatoriana durante marzo de 2008. Informe técnico. Instituto Nacional de Pesca – INP. Guayaquil Ecuador. 26 p.

HERZIG, C.E. 1990. Mitochondrial DNA used to track the dispersal of a preferred menu item in Waikiki restaurants: Mahimahi as an example of genetic tagging with mtDNA. *Pacific Science*: 44(2): 186–187.

HEWITT, G. M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405, 907–913.

HILBORN, R.; BRANCH, T.A.; ERNST, B.; MAGNUSSON, A.; MINTE-VERA, C.V.; SCHEUERELL, M.D.; VALERO, J.L. 2003. State of the World's Fisheries. *Annual Review of Environment and Resources*. 28:359-399

HILSDORF, A.W.S.; RESENDE, E.K.; MARQUES, D.K.S. 2006. Genética e Conservação de Estoques Pesqueiros de Águas Continentais no Brasil: Situação Atual e Perspectivas. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006. 44p

HOWELL, N.; SMEJKAL, C. B.; MACKEY, D. A.; CHINNERY, P. F.; TURNBULL, D. M.; HERRNSTADT, C. 2003. The pedigree rate of sequence divergence in the human mitochondrial genome: there is a difference between phylogenetic and pedigree rates. *Am. J. Hum. Genet.* 72, 659–670.

HSIEH, C.H.; REISS, C.S.; HUNTER, J.R.; BEDDINGTON, J.R.; MAY, R.M.; SUGIHARA, G. 2006. Fishing elevates variability in the abundance of exploited species. *Nature*, 443(7113): 859–862.

HUDSON, R. R., 2000. A new statistic for detecting genetic differentiation. *Genetics* 155, 2011–2014.

HUTCHINGS, J.A. 2000. Numerical assessment in the front seat, ecology and evolution in the back seat: time to change drivers in fisheries and aquatic sciences? *Marine ecology progress series*, 208: 299–303

INPA (Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura)/ VECEP (Proyecto de la Unión Europea). 2000. Pesca Blanca en el Pacífico Colombiano. Buenaventura-Colombia. 14 p.

IPCC. 2007. Summary for policymakers. In M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. v. d. Linden & Hanson, C.E, eds. *Climate change 2007: impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of working group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, pp. 7–22. Cambridge, UK, Cambridge University Press.

ISKANDAR, I.; MARDIANSYAH, W.; MASUMOTO, Y.; YAMAGATA, T. 2005. Intraseasonal Kelvin waves along the southern coast of Sumatra and Java. *Journal of Geophysical Research* 110, C04013. doi: 10.1029/2004JC002508.

JAHNCKE, J.; CHECKLEY, D.M.; HUNT, G.L. 2004. Trends in carbon flux to seabirds in the Peruvian upwelling system: effects of wind and fisheries on population regulation. *Fisheries oceanography*, 13(3): 208–223.

JOMBART, T.; DEVILLARD, S.; BALLOUX, F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* 11: 94 (doi:10.1186/1471-2156-11-94).

JOMBART, T.; DEVILLARD, S.; DUFOUR., A.B.; PONTIER, D. 2008. Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. *Heredity*. 101(1):92-103.

KINGSFORD, M.J.; DEFRIES, A. 1999. The ecology of and fishery for *Coryphaena* spp in the waters around Australia and New Zealand. *Scientia Marina*: 63(3–4): 267–275.

- KINGMAN, J.F.C. 1982. The Coalescent. Stochastic Processes and their applications. 13: 245-248.
- KRAUL, S. 1999. Seasonal abundance of the dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, in Hawaii and the Tropical Pacific Ocean. *Scientia Marina*: 63(3-4): 261-266.
- LAMBECK, K.; CHAPPELL, J., 2001. Sea level change through the last glacial cycle. *Science* 292, 679-686.
- LARGIER J. 2003. Considerations in estimating larval dispersal distances from oceanographic data. *Ecol. Appl.* 13:S71-89
- LASSO, J.; ZAPATA, L.A. 1999. Fisheries and biology of *Coryphaena hippurus* (Pisces: Coryphaenidae) in the Pacific coast of Colombia and Panama. *Scientia Marina*, vol. 63, pp. 387- 399.
- LAVÍN, M.F.; FIEDLER, P.C.; AMADOR, J.A.; BALLANCE, L.T.; FÄBER-LORDA, J.; MESTAS-NUÑEZ, A.M. 2006. A review of eastern tropical Pacific oceanography: Summary. *Progress in Oceanography* 69 (2006) 391-398.
- LESSIOS, H. A. 1998. The first stage of speciation as seen in organisms separated by the Isthmus of Panama. Pp. 186-201 in D. J. Howard and S. Berlocher, eds. *Endless forms: species and speciation*. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25, 1451-1452.
- LINNAEUS, C. 1758. *Systema Naturae*. Ed. 10. Facsimile. Natural History Museum, England. 824 pp.
- LIVIA, L.; ANTONELLA, P.; HOVIRAG, L.; MAURO, N.; PANARA, F. 2006. A nondestructive, rapid, reliable and inexpensive method to sample, store and extract high-quality DNA from fish body mucus and buccal cells. *Molecular Ecology Notes* 6:257-260.
- LOPERA-BARRERO, N.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; GOMES, P.C.; JACOMETO, C.B.; LOPES, T. da S. 2008. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras

de aleta y larva de peces: extracción modificada com cloruro de sódio. Cien. Inv. Agr. 35(1): 77-86.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; SIROL, R.; POVH, J.A.; GOMES, P.C.; VARGAS, L.; STREIT JR., D.P. 2006. Genetic diversity in piracanjuba populations (*Brycon orbignyanus*) with the RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers. Journal Animal Science 84:170.

LOPERA-BARRERO, N.M.; STREIT JR, D.P.; SIROL, R.N.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS, L.; GOMES, P.C.; LOPES, T. da S.; JACOMETO, C.B.; BLANCK, D.V. 2007. Monitoramento da diversidade genética dos reprodutores e da progênie de *Piaractus mesopotamicus* obtida pelo sistema seminatural. P. 31-36-Genética. Em: I Congresso Brasileiro de Produção de Peixes Nativos de Água Doce, Brasil (Resumo).

LÓPEZ DE LA ROSA, I. 1997. Crustáceos decápodos capturados durante las campañas del IEO ARSA 0393 y ARSA 1093 en el Golfo de Cádiz: distribución batimétrica. Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanogr. 23, 199–206.

LOWE, A.; HARRIS, S.; ASHTON, P. 2004. Ecological Genetics: Design, Analysis and Application. Blackwell Publ. Malden.

LUCH-COTA, S.E., 2002. Coastal upwelling in the eastern Gulf of California. Oceanologica Acta 23 (6), 731–740.

MADR - CCI. Pesca y Acuicultura Colombia 2010. Convenio Corporación Colombia Internacional - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá. En Prensa.

MADRID, J. V.; BELTRÁN-PIMIENTA, R. 2001. Longitud, peso y sexo del dorado *Coryphaena hippurus* (Perciformes: Coryphaenidae), del litoral de Sinaloa, Nayarit y Baja California sur, México. Revista Biología Tropical 49 (3-4): 931-938.

MAGGS, C. A.; CASTILHO, R.; FOLTZ, D.; HENZLER, C.; JOLLY, M. T.; KELLY, J.; OLSEN, J.; PEREZ, K. E.; STAM, W.; VÄINÖLÄ, R.; VIARD, F.; WARES, J.; 2008. Evaluating signatures of glacial refugia for North Atlantic benthic marine taxa. Ecology 89, S108–S122.

MAHON R.; HUNTE W.; OXENFORD H.; STOREY K.; HASTINGS R. E. 1981. Seasonality in the commercial marine fisheries of Barbados. Proc. Gulf Caribb. Fish. Inst. 34: 28-37.

MAHON R.; OXENFORD, H.A. 1999. Precautionary assessment and management of dolphinfish in the Caribbean. Scientia Marina, 63: 429-438.

MANZANO-SARABIA, M; SALINAS-ZAVALIA, C.A; KAHRU, M; LUCH-COTA, S.E; GONZÁLEZ-BECERRILI, A. 2008. The impact of the 1997–1999 warm-SST and low-productivity episode on fisheries in the southwestern Gulf of Mexico. Hydrobiologia 610: 257–267.

MARENGONI, N. G.; MACHADO, M. R. F.; GASPARINO, E. Extraction of genomic DNA from solid tissues of teleostei fish. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, n. 1, 99-106pp, jan./mar, 2006.

MARQUES, D.K.S. 2002. Aplicação da Biologia Molecular em Programas de Conservação de Recursos Pesqueiros. Corumbá: Embrapa Pantanal, 22 p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 36).

MASSUTÍ, E.; MORALES-NIN, B. 1995. Seasonality and reproduction of dolphin-fish *Coryphaena hippurus* in the Western Mediterranean. Sci.Mar. 59 (3-4): 357-364.

MCDOWELL, J.R.; GRAVES, J.E. 2008. Population structure of striped marlin (*Kajikia audax*) in the Pacific Ocean based on analysis of microsatellite and mitochondrial DNA. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science: 65, 1307–1320.

MADR - MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL/CCI. 2009. Pesquería de dorado (Perciformes: Coryphaenidae) en el Pacífico colombiano. Sistema de información de pesca y acuicultura. Boletín mensual. Enero-Marzo.

MENDONÇA, F.F. 2007. Estudo da estrutura populacional de gênero Rhizoprionodon (Chondrichthyes, Carcharhinidae) na costa brasileira, utilizando marcadores moleculares do DNA mitocondrial. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. 140p.

MITARAI S.; SIEGEL, D. A.; WATSON, J. R.; DONG C.; MCWILLIAMS, J. C. 2009. Quantifying connectivity in the coastal ocean with application to the Southern California Bight. *J. Geophys. Res.* 114, C10026.

MOKHTAR-JAMAÏ, K.; PASCUAL, M.; LEDOUX, J.B.; COMA, R.; FÉRAL, J.P.; GARRABOU, J.; AURELLE, D., 2011. From global to local genetic structuring in the red gorgonian *Paramuricea clavata*: the interplay between oceanographic conditions and limited larval dispersal. *Mol. Ecol.* 20, 3291–3305.

MUÑOZ, J.E.F. 2011. Diversidad genética, estructura poblacional y selección de clones superiores de *Gadua angustifolia* KUNTH, en la eco-región cafetera de Colombia. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. 150p.

MYERS, R.A.; BAUM, J.K.; SHEPHERD, T.D.; POWERS, S.P.; PETERSON, C.H. 2007. Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. *Science*, 315(5820): 1846–1850.

NAM, Y.K.; PARK, J.E.; KIM, K.K.; KIM, D.S. 2003. A rapid and simple PCR-based method for analysis of transgenic fish using a restricted amount of fin tissue. *Transgenic Research*, 12:523-525.

NORTON, J. G. 1999. Apparent habitat extension of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in response to climate transient in the California Current. En: E. Massutí y B. Morales-Nin (eds.). *Biology and fisheries of dolphinfish and related species*. *Scientia Marina* 63(3-4):239-260.

NORTON, J.G.; CROOKE, S.J. 1994. Occasional availability of dolphin, *Coryphaena hippurus*, to southern California Commercial Passengers fishing vessel anglers: observation and hypothesis. *California Cooperation Oceanic Fisheries Investigation (Calcofi)*. 35: 230-239.

NORTON, J.G.; CROOKE, S.J. 1994. Occasional availability of dolphin, *Coryphaena hippurus*, to southern California Commercial Passengers fishing vessel anglers: observation and hypothesis. *California Cooperation Oceanic Fisheries Investigation (Calcofi)*. 35: 230-239.



---

OBIS – OCEAN BIOGEOGRAPHIC INFORMATION SYSTEM, 2013. Distribución mundial del dorado. {En línea}. {10 julio de 2013} disponible en: (<http://www.iobis.org/>)

ORR, J.C.; FABRY, V.J.; AUMONT, O.; BOPP, L.; DONEY, S.C.; FEELY, R.A.; GNANADESIKAN, A.; GRUBER, N.; ISHIDA, A.; JOOS, F.; KEY, R.M.; LINDSAY, K.; MAIER-REIMER, E.; MATEAR, R.; MONFRAY, P.; MOUCHET, A.; NAJJAR, R.G.; PLATTNER, G-K.; RODGERS, K.B.; SABINE, C.L. 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. 29;437(7059):681-686.

OXENFORD, H. 1999. Biology of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western Central Atlantic: a review. In Biology and fishery of dolphinfish and related species. Scientia Marina. Barcelona-España. 63 (3-4): 277-301 pp.

OXENFORD, H.A; HUNT, W. 1986. A preliminary investigation of the stock structure of the dolphin, *Coryphaena hippurus*, in the western central Atlantic. Fishery Bulletin: 84(2): 451–460.

PALACIOS, D.M.; BOGRAD, S.J.; FOLEY, D.G.; SCHWING, F.B. 2006. Oceanographic characteristics of biological hot spots in the North Pacific: a remote sensing perspective. Deep-Sea Res II 53: 250–269

PALERO, F.; ABELLÓ, P.; MACPHERSON, E.; BEAUMONT, M.; PASCUAL, M. 2011. Effect of oceanographic barriers and overfishing on the population genetic structure of the European spiny lobster (*Palinurus elephas*). Biological Journal of the Linnean Society 104 (2): 407–418.

PALKO, J.B.; BEARDSLEY, G.L.; RICHARDS, W.J. 1982. Synopsis of the biological data on dolphin-fishes, *Coryphaena hippurus* and *Coryphaena equiselis*. L. NOAA Technical Report NMFS Circular 443, FAO Fish. Synopsis No. 130, p. 28.

PALUMBI, S.R. 2004. Marine reserves and ocean neighborhoods: the spatial scale of marine populations and their management. Annu. Rev. Environ. Resour. 29, 31–68.

PALUMBI, S.R.; GRABOWSKY, G.; DUDA, T.; GEYER, L.; TACHINO, N. 1997. Speciation and population genetic structure in tropical Pacific sea urchins. *Evolution* 51:1506-1517.

PARPINELLI, R.S.; RIBEIRO, R.P. Estudo comparativo de protocolos de extração de DNA em diferentes tecidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Global Science and Technology*, V.2(1): 22-33pp, 2009.

PATARNELLO, T.; VOLCKAERT, J.; CASTILHO, R. 2007. Pillars of Hercules: is the Atlantic-Mediterranean transition a phylogeographical break? *Mol. Ecol.* 16, 4426–4444.

PATTERSON, K. Y; MARTÍNEZ, J. 1991. Exploitation of the dolphinfish *Coryphaena hippurus* L. off Ecuador: Analysis by length-based virtual population analysis. *Fishbyte*. 9(2): 21-23. ASFA (consultado el 10/06/2012)

PENNINGTON, T.J.; MAHONEY, K.L.; KUWAHARA, V.S.; KOLBER, D.D.; CALIENES, R.; CHÁVEZ, F.P. 2006. Primary production in the eastern tropical Pacific: A review. *Prog. Oceanogr.* 69: 285–317.

PERALTA, M. 2007. Aspectos biológicos y pesqueros del recurso dorado (*Coryphaena hippurus*) en aguas ecuatoriales. Informe técnico, Instituto Nacional de Pesca. Ecuador. 26 p.

PHILLIPS, B. F.; JEFFS, A. G.; MELVILLE-SMITH, R.; CHUBB, C. F.; NELSON, M. M.; NICHOLS, P. D. Changes in lipid and fatty acid composition of late larval and puerulus stages of the spiny lobster (*Panulirus cygnus*) across the continental shelf of Western Australia. *Comparative Biochemistry and Physiology Biochemistry & Molecular Biology*. v. 143, n. 2, p. 219-228, 2006.

PINEDA-SANTIS, H.R.; PAREJA-MOLINA, D.; OLIVERA-ÁNGEL, M.; BUILES-GÓMEZ, J. 2004. Contribución a la relación taxonómica entre cuatro especies de peces de la familia Characidae mediante el Polimorfismo de ADN Amplificado al Azar (RAPD). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 17:30-37.

POTOSCHI, A.; REÑONES, O.; CANNIZZARO, L. 1999. Sexual development, maturity and reproduction of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western and central Mediterranean. *Sci. Mar.* 63, 367–372.

POVH, J.A. 2007. Avaliação da diversidade genética e do manejo reprodutivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus*. Tese (Doutorado em Zootecnia), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil. 75 p

POVH, J.A.; MOREIRA, H.L.M.; RIBEIRO, R.P.; PRIOLI, A.P.; VARGAS, L.; BLANCK, D.V.; GASPARINO, E.; STREIT JR, D.P. 2005. Estimativa da variabilidade genética em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com a técnica de RAPD. *Acta Scientiarum Animal Science* 27:1-10.

PUNTES, V. 1995. Evaluación de la Cherna Café *Epinephelus Cifuentes* (pisces: serramidae) en el Pacífico Colombiano y datos preliminares sobre su fauna acompañante y alternativa temporal de pesca. Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura- INPA.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

RAHIM, M.H.A.; ISMAIL, P.; ALIAS, R.; MUHAMMAD, N.; JAIS, A.M.M. 2012. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA cytochrome b gene among Haruan (*Channa striatus*) in Malaysia. *Gene*, 494, 1–10.

REECE, J.S.; BOWEN, B.W.; JOSHI, K.; GOZ, V.; LARSON, A. 2010. Phylogeography of Two Moray Eels Indicates High Dispersal Throughout the Indo-Pacific. *J. Hered.* 101, 391–402.

REECE, J.S.; BOWEN, B.W.; JOSHI, K.; GOZ, V.; LARSON, A. 2010. Phylogeography of Two Moray Eels Indicates High Dispersal Throughout the Indo-Pacific. *J. Hered.* 101, 391–402.

RIVERA, G.A.; APPELDOORN, R.S. 2000. Age and growth of dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, off Puerto Rico. Fishery Bulletin: 98(2): 345–352.

ROBERT, M.; DAGORN, L.; DENEUBOURG, J.L. 2010. Comparing condition factors of skipjack tuna associated with natural floating objects and those from free swimming schools in the Mozambique Channel. Indian Ocean Tuna Commission document, IOTC-2010-WPTT-24, 14 pp.

ROCHA-OLIVARES, A.; SANDOVAL-CASTILLO, J.R. 2003. Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*. Ciencias Marinas (2003), 29(2): 197–209.

ROCHA-OLIVARES, A.; BOBADILLA-JIMÉNEZ, M.; ORTEGA-GARCÍA, S.; SAAVEDRA-SOTELO, N.; SANDOVAL-CASTILLO, J.R. 2006. Variabilidad mitocondrial del dorado *Coryphaena hippurus* en poblaciones del Pacífico. Ciencias Marinas (2006), 32(3): 569–578.

ROGERS, A. R., 1995. Genetic evidence for a pleistocene population explosion. Evolution 49, 608–615.

ROGERS, A.R.; HARPENDING, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. Mol. Biol. Evol. 9, 552–569.

ROMAN, J. 2006. Diluting the founder effect: cryptic invasions expand a marine invader's range. Proc. Roy. Soc. Lond. B Bio. 273, 2453–59.

ROMANO, E.; MIRANDA, A. C. B. Extração de DNA de plantas: soluções para problemas comumente encontrados. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Brasília, 1999, v.2, n.9, p.40-43.

---

ROSALES-MORALES, A. 2007. Estructura Genética del dorado (*Coryphaena hippurus* Linnaeus 1758) en el Pacífico mexicano, inferida mediante marcadores moleculares de ADN nuclear. Tesis. 69 p. Universidad del Mar. Puerto Ángel, Oaxaca. México.

SADOVY, Y.; CHEUNG, W.L. 2003. Near extinction of a highly fecund fish: the one that nearly got away. *Fish and Fisheries*, 4: 86–99.

SAIKI, R. K. 1990. Amplification of genomic DNA. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKI, J. J.; WHITE, T. J (Ed.). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press, 1990. p.13-20.

SÁNCHEZ-IZQUIERDO, E.; DÍAZ-JAIME, P.; ALCOCER, M.U. 2008. Evaluación de la estructura genética poblacional del dorado (*Coryphaena hippurus*) en el Pacífico Oriental. XI Foro Nacional sobre el Atún. Mazatlán, Sinaloa, México.

SANCHEZ-REYES, N.A., 2008. Distribución de larvas de dorado *Coryphaena hippurus* (Linnaeus, 1758) y *Coryphaena equiselis* (Linnaeus, 1758) en el Pacífico oriental mexicano. Master's Thesis. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, La Paz, B.C.S., Mexico.

SANDOVAL-CASTILLO, J.R.; ROCHA-OLIVARES, A.; VILLAVICENCIO-GARAYZAR C.; BALART, E. 2004. Cryptic isolation of Gulf of California *Shovelno seguitar* fish evidenced by mitochondrial DNA. *Marine Biology* 145(5): 983–988.

SARMIENTO, J.L.; SCHLITZER, R.; SLATER, R.D.; TOTTERDELL, I.J.; WEIRIG, M-F.; YAMANAKA, Y.; YOOL, A . 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*, 437: 681–686.

SCHUNTER, C.; CARRERAS-CARBONELL, J.; PLANES, S.; SALA, E.; BALLESTEROS, E.; ZABALA, M.; HARMELIN, J.; HARMELIN-VIVIEN, M.; MACPHERSON, E.; PASCUAL, M. 2011. Genetic connectivity patterns in an endangered species: The dusky grouper (*Epinephelus marginatus*). *401 (1-2): 126-133*.

SCHUNTER, C.; CARRERAS-CARBONELL, J.; MACPHERSON, E.; TINTORÉ, J.; VIDAL-VIJANDE, E.; PASCUAL, A.; GUIDETTI, P.; PASCUAL, M. 2011b. Matching genetics with oceanography: directional gene flow in a Mediterranean fish species. *Mol. Ecol.* 20, 5167-5181.

SCHWENKE, K.; BUCKEL, J. A. 2008. Age, growth and reproduction of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) caught off the coast of North Carolina. *Fish. Bull.* 1: 82-92

SELKOE, K.A.; HENZLER, C.M.; GAINES, S.D. 2008. Seascape genetics and the spatial ecology of marine populations. *Fish Fish* 9:363-377

SELVARAJ, J. J.; MARTINEZ, A.; GUZMAN, A. I. 2010b. Environmental preference of Dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) derived from remotely sensed data along the Pacific coast of Colombia. ICES Annual Science Conference, Nantes, France, 11p.

SELVARAJ, J.J.; GUZMAN, A. I.; MARTINEZ, A. 2010a. Thermal fronts and their influence on the distribution of Dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the Pacific coast of Colombia. JRC Scientific and Technical report, 199-200.

SHAW, P.W.; TURAN, C.; WRIGHT, J.M.; O'CONNELL, M.; CARVALHO, G.R. 1999. Microsatellite DNA analysis of population structure in Atlantic herring (*Cuplea harengus*), with direct comparison to allozyme and mtDNA RFLP analyses. *Heredity*: 83, 490–499.

SIGNORET, M.; MONREAL-GÓMEZ, M.A.; ALDECO, J.; SALAS-DE-LEÓN, S. 2006. Hydrography, oxygen saturation, suspended particulate matter, and chlorophyll-a fluorescence in an oceanic region under fresh water influence. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 69: 153-164.

SOLANKI, H.U.; MANKODI, P. C.; NAYAK, S.; SOMVANSHI, V.S. 2005. Evaluation of remote sensing based potential fishing zones (PFZs) fore cast methodology. *Continental Shelf Research* 25: 2163-2173.

SOLANO-SARE A.; TRESIERRA, A.; GARCÍA-NOLASCO V.; DIOSES T.; MARÍN, W.; SÁNCHEZ, C.; WOSTNIZA-MENDO, C. 2008. Biología y Pesquería del Perico. Disponible en:

([http://www.imarpe.gob.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe\\_inform\\_blgia\\_y\\_pesqueria\\_p\\_ericico.pdf](http://www.imarpe.gob.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe_inform_blgia_y_pesqueria_p_ericico.pdf)).

SOLÉ-CAVA, A.M. 2001. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: MATIOLI, S.R. (ed.). *Biologia Molecular e Evolução*, Ribeirão Preto: Holos Editora, p.172-192.

SOLLERO, B. P.; FARIA, D. A.; PAIVA, S. R.; GUIMARÃES, S. E. F.; LOPES, P. S.; PAIXÃO, D. M. 2004. Método rápido de extração de DNA utilizando CTAB em tecidos musculares de suínos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA, 6., CONGRESSO NACIONAL DE ZOOTECNIA, 13., 2004. Brasília. Anais. Brasília: SBZ, 2004. CD-ROM.

TAJIMA, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123, 597–601.

TANG, L.; LIN, C.S.; KRISHNA, N.K.; YEAGER, M.; SCHNEEMANN, A.; JOHNSON, J.E. 2002 Virus like particles of a fish nodavirus display a capsid subunit domain organization different from that of insect nodaviruses. *Journal of Virology*, 76(12): 6370-6375.

TESKE, P.R.; VON DER HEYDEN, S.; MCQUAID, C.D.; BARKER, N.P. 2011. A review of marine phylogeography in southern Africa. *South African Journal of Science*, 107, 43–53.

THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D.G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*: 24, 4876–4882.

TORRES, A.G.M., 1996. Edad y Crecimiento de *Coryphaena hippurus* (Linnaeus 1758) (Osteichthyes: Coryphaenidae), en el Sur de la Península de Baja California, México. Master degree Thesis. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, BCS, México, 71 pp.

TRIPP-VALDEZ, M.A.; GARCÍA-LEÓN, F. J.; ORTEGA-GARCÍA, S.; LLUCH-COTA, D.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, J.; CRUZ, P. 2010. Population genetic structure of dolphinfish

(*Coryphaena hippurus*) in the Gulf of California, using microsatellite loci .Fisheries Research: 105 (2010) 172–177.

VALENCIA, B.; LAVANIEGOS, B.; GIRALDO, A.; RODRÍGUEZ-RUBIO, E. 2013. Temporal and spatial variation of hyperiid amphipod assemblages in response to hydrographic processes in the Panama Bight, eastern tropical Pacific. Deep-Sea Research I 73 (2013) 46–61.

VALENTIM, M.; VARGAS, L.; MOREIRA, H.M.; RIBEIRO, R.P. 2003. Comparação de protocolos para extração do DNA de *Lernaea* sp. (Copepoda: Cyclopoida) - DOI: 10.4025/actascianimsci.v25i2.1973.

VALVERDE, J.; SÁNCHEZ, E.; HUNG, M.; CASQUETE, J.; GAMBOA, H.; ORTIZ, G.; FRANKY, J. 1999. Guía Ilustrada para La Captura de: El Dorado, el Calamar, los Medianos Pelágicos y la Anguila. Adecuación de lagunas costeras para El cultivo de especies nativas. Programa regional de cooperación técnica para la pesca INPA-UE/VECEP ALA 92/43. Buenaventura. 90 p. ISSN 0123-2886

VIEIRA, V.P.; RIBEIRO, R.P.; VARGAS, L.; MOREIRA, H.L.M.; POVH, J.A.; LOPERA-BARRERO, N.M. 2005. Avaliação da variabilidade genética de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com o uso do marcador de RAPD. Revista Acadêmica Curitiba 3:41-49

WARES, J.P. 2010. Natural distributions of mitochondrial sequence diversity support new null hypotheses. Evolution 64, 1136–1142.

WASKO, A.P.; MARTINS, C.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. 2003. Nondestructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales. Hereditas 138:161-165.

WEERSING, K.; TOONEN, R.J. 2009. Population genetics, larval dispersal and connectivity in marine systems. Marine Ecology Progress Series, 393, 1-12.



---

WINGROVE, R.S. 2000. The population structure of dolphin, *Coryphaena hippurus* L. 1758, in the western central Atlantic, Gulf of Mexico and eastern Caribbean Sea inferred from mitochondrial DNA variation. M.Sc. thesis, Department of Biology, College of Charleston.

WORM, B.; BARBIER, E.B.; BEAUMONT, N.; DUFFY, J.E.; FOLKE, C.; HALPERN, B.S.; JACKSON, J.B.C.; LOTZE, H.K.; MICHELI, F.; PALUMBI, S.R.; SALA, E.; SELKOE, K.A.; STACHOVICZ, J.J.; WATSON, R. 2006. Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science*, 314: 787–790.

WU, C. C.; SU, W. C.; KAWASAKI, T. 2001. Reproductive biology of the dolphin fish *Coryphaena hippurus* on the east coast of Taiwan. *Fish. Sci.* 67: 784-793.

YÁNEZ, E.R; GONZÁLEZ, A.C.; BARBIERI. 1995. Estructura térmica superficial del mar asociada a la distribución espacio-temporal de sardina y anchoveta en la zona norte de Chile entre 1987 y 1992. *Invest. Mar.*, Valparaíso, 23: 123-147, 1995.

YUE, G.H.; ORBAN, L. 2001. Rapid Isolation of DNA from Fresh and Preserved Fish Scales for Polymerase Chain Reaction. *Marine Biotechnology* 3:199-204.

ZÚÑIGA-FLORES, M.S.; ORTEGA-GARCÍA, S.; KLETT-TRAULSEN, A. 2008. Interannual and seasonal variation of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) catch rates in the southern Gulf of California, Mexico. *Fisheries Research* 94 (2008) 13–17.

ZUÑIGA-FLORES, M.S.; ORTEGA-GARCIA, S.; RODRÍGUEZ-JARAMILLO, M.C.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, J. 2011. Reproductive dynamics of the common dolphinfish *Coryphaena hippurus* in the southern Gulf of California. *Marine Biology Research*, 7(7): 677-689.