

Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*

Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*

Axayácatl Rocha-Olivares¹
Jonathan R. Sandoval-Castillo^{1,2}

¹ Departamento de Ecología
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada
Apartado postal 2732
Ensenada, CP 22860, Baja California, México
E-mail: arocha@cicese.mx

² Departamento de Biología Marina
Universidad Autónoma de Baja California Sur
Apartado postal 19B
La Paz, CP 23080, Baja California Sur, México

Recibido en julio de 2002; aceptado en enero de 2003

Resumen

Analizamos la diversidad genética y la estructura de tres poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) mediante análisis de fragmentos de restricción de toda la región de control mitocondrial (1350 pb). Encontramos altos niveles de diversidad haplotípica ($h = 0.966$) y nucleotídica ($\pi = 3.23\%$) en los 100 organismos analizados provenientes de las costas de Baja California Sur, Sinaloa y Jalisco (México). La mayor fracción de la variabilidad fue detectada con sólo una de las cinco enzimas de restricción utilizadas (*MseI*). El análisis de heterogeneidad de las frecuencias haplotípicas no fue significativo ($\chi^2 = 125.1$, $P > 0.25$); los valores de los índices de fijación de Wright ($F_{ST} = 0.0062$, $P = 0.140$) y su análogo molecular ($\Phi_{ST} = 0.0194$, $P = 0.056$) tampoco lo fueron. Un análisis de variancia molecular (AMOVA) corroboró la ausencia de diferenciación entre poblaciones peninsulares y continentales, aunque arrojó un Φ_{ST} marginalmente significativo ($\Phi_{ST} = 0.0116$, $P = 0.048$). No se detectó ningún patrón filogeográfico en un árbol génico reconstruido por *Neighbor-Joining*. Argumentamos que los altos niveles de diversidad genética molecular son consistentes con la existencia de un tamaño poblacional importante, mientras que la ausencia de estructura genética en el extremo norte de distribución de la especie sugiere la acción de mecanismos pasivos de transporte larvario entre poblaciones alopátricas, aunque la migración activa de organismos adultos no puede ser descartada del todo.

Palabras clave: huachinango, ADN mitocondrial, estructura poblacional, diversidad genética molecular, AMOVA.

Abstract

We analyzed the genetic diversity and structure of three allopatric populations of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Nichols and Murphy, 1922) by means of restriction fragment length polymorphisms of the entire mitochondrial control region (1350 bp). We found high levels of haplotype ($h = 0.966$) and nucleotide ($\pi = 3.23\%$) diversities among the 100 organisms analyzed from Baja California Sur, Sinaloa and Jalisco (Mexico). Most of the molecular variability was detected with only one of the five restriction enzymes used (*MseI*). Heterogeneity analysis of haplotype frequencies was not significant ($\chi^2 = 125.1$, $P > 0.25$); neither were Wright's fixation index ($F_{ST} = 0.0062$, $P = 0.140$) nor its molecular analogue ($\Phi_{ST} = 0.0194$, $P = 0.056$). An analysis of molecular variance (AMOVA) confirmed the absence of differentiation between peninsular and continental populations, even though it produced a marginally significant Φ_{ST} ($\Phi_{ST} = 0.0116$, $P = 0.048$). No phylogeographic pattern was detected in a Neighbor-Joining gene tree. We argue that high molecular diversity levels are consistent with a large population size and that the absence of an apparent genetic structure, in the extreme north of the species distribution, suggests the action of mechanisms favoring passive larval transport among allopatric populations; although active adult migration cannot be ruled out.

Key words: mitochondrial DNA, population structure, Pacific red snapper, molecular genetic diversity, AMOVA.

Introducción

El manejo sustentable de cualquier especie requiere del conocimiento de su estructura poblacional puesto que variaciones en la dinámica poblacional y demográfica dentro de su ámbito geográfico repercuten en su explotabilidad y sustentabilidad (Sinclair, 1988). La utilización de genética molecular para estimar el grado de aislamiento reproductivo entre poblaciones ha permitido tener un acceso más directo a la diferenciación intraespecífica heredable y evolutivamente relevante (Grant *et al.*, 1999). Este tipo de información también ha dado origen a un nuevo concepto de unidad biológica: la Unidad Evolutivamente Significativa (UES), que se define como una población o grupo de poblaciones que se encuentran aisladas reproductivamente de otras y que representan un componente importante del legado evolutivo de la especie (Waples, 1995). Debido a sus características evolutivas que incluyen, entre otras, una alta tasa de sustitución nucleotídica, una herencia clonal matrilineal y la ausencia de recombinación (Avice, 1994), el ADN mitocondrial (ADNmt) ha cobrado un papel preponderante en estudios de genética intraespecífica de especies con prioridades de manejo y conservación. En México, los estudios de genética poblacional molecular se hacen cada vez más urgentes en la medida que el número de organismos marinos afectados por un manejo inadecuado aumenta a nivel nacional (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Rosel y Rojas-Bracho, 1999; D'Agrosa *et al.*, 2000). En este trabajo presentamos los primeros datos sobre la diversidad genética mitocondrial y diferenciación de poblaciones alopátricas de un pez óseo activamente explotado en el litoral del Pacífico mexicano: el huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922).

Lutjanus peru se distribuye desde el norte de Perú hasta el sur del Estado de Baja California Sur, México (Allen, 1987). Son depredadores generalistas demersales que se alimentan principalmente durante la noche de crustáceos, moluscos, peces y urocordados (Allen, 1985; Díaz-Uribe y Elorduy-Garay, 1994; Santamaría, 1998). Habitan aguas tropicales a profundidades relativamente someras hasta por lo menos 90 m (Allen y Robertson, 1994). Su crecimiento es lento, alométrico y similar entre ambos sexos, llegando a alcanzar hasta 99 cm de longitud total (LT) (González-Ochoa, 1997; Rocha-Olivares, 1998); son gonocóricos y maduran entre los 25 y 40 cm LT, presentando generalmente una proporción de sexos cercana a 1 y más de un periodo de desove anual (Cruz-Romero *et al.*, 1991; Reyna-Trujillo, 1994; Santamaría, 1998). Allen (1987) menciona que los adultos y juveniles de *L. peru* son esencialmente sedentarios, sin extensas migraciones y que están típicamente asociados con sustratos rocosos o coralinos. Sin embargo, aunque algunos estadios larvarios se han descrito recientemente (Watson y Brogan, 1996), no se cuenta con una descripción completa de su ciclo de vida y se desconoce totalmente la ecología larvaria de la especie. De acuerdo con las estadísticas oficiales, la producción pesquera de huachinango en el Pacífico mexicano ha oscilado entre 1739 y 4917 toneladas anuales durante los últimos 30 años (1968 a 1998), siendo de gran importancia las capturas realizadas en

Introduction

Proper knowledge of an organism population structure is required for sustainable management plans, since changes in population dynamics and demographics have direct consequences on a species exploitability and sustainability (Sinclair, 1988). The use of molecular genetic tools to estimate degrees of reproductive isolation among populations has given a direct access to hereditary and evolutionary significant intraspecific differentiation (Grant *et al.*, 1999). This kind of information has also helped in the development of a new biological unit: the Evolutionary Significant Unit (ESU), defined as a population, or group of populations, that is substantially reproductively isolated from other co-specific populations, and represents an important component in the evolutionary legacy of the species (Waples, 1995). Due in large part to its evolutionary dynamics featuring, among others, a high rate of nucleotide substitution, maternal inheritance and a lack of recombination (Avice, 1994), mitochondrial DNA (mtDNA) has played a major role in studies of intraspecific genetics of species in need of management and conservation plans. In Mexico, population genetic studies are ever more urgent as the number of marine organisms threatened by inadequate management is increasing nationally (Cisneros-Mata *et al.*, 1995; Rosel and Rojas-Bracho, 1999; D'Agrosa *et al.*, 2000). Here, we provide the first data on the mitochondrial genetic diversity and differentiation among allopatric populations of a teleost that is being fished along the Mexican Pacific coast: the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Nichols and Murphy, 1922).

Lutjanus peru ranges from northern Peru to southern Baja California Sur, Mexico (Allen, 1987). It is a generalist demersal predator that feeds mainly during the night on crustaceans, mollusks, fish, and urochordates (Allen, 1985; Díaz-Uribe and Elorduy-Garay, 1994; Santamaría, 1998). They can be found in tropical waters, ranging from shallows to at least 90 m depth (Allen and Robertson, 1994). Red snappers grow slowly, allometrically, and can reach 99 cm total length (TL) (González-Ochoa, 1997; Rocha-Olivares, 1998). They are gonochoristic and sexually mature between 25 and 40 cm TL. They have a close to 1 sex ratio and multiple spawning events during the year (Cruz-Romero *et al.*, 1991; Reyna-Trujillo, 1994; Santamaría, 1998). Allen (1987) writes that juveniles and adults of *L. peru* are essentially sedentary, lacking any extensive migratory behavior, and are mainly associated with rocky and coralline bottoms. Even though some larval stages of Pacific red snappers have been recently described (Watson and Brogan, 1996), their complete life cycles as well as any detail about their larval ecology remain unknown. According to official fishing records, red snapper yearly production along the Mexican Pacific coast has ranged between 1739 and 4917 metric tons during the last three decades (1968–1998), with the largest landings reported from the states of Baja California Sur, Jalisco and Sinaloa (Cruz-Romero *et al.*, pers. comm.). As is the case with other demersal species that share the same habitat with penaeid shrimps during early life stages,

Baja California Sur, Jalisco y Sinaloa (Cruz-Romero *et al.*, com. pers.). Al igual que otras especies demersales que durante su desarrollo comparten el hábitat con crustáceos penéidos, los juveniles del huachinango forman parte de la fauna acompañante en la pesca de camarón (Rocha-Olivares, 1998).

Si bien los datos biológicos existentes sobre *L. peru* sugieren una diferenciación fenotípica a lo largo del litoral mexicano, se carece totalmente de información genética para un manejo adecuado del recurso. Esta información es necesaria tanto para poder interpretar los datos biológicos y ecológicos desde una perspectiva evolutiva, como para identificar y comprender qué factores bióticos y abióticos determinan la estructura poblacional de la especie.

Materiales y métodos

Muestreo

Los muestreos se realizaron en los estados de Jalisco (enero 2000), Sinaloa (mayo 2000) y Baja California Sur (junio 2000), que sustentan una importante pesquería de la especie. Las muestras provinieron de la pesca comercial del recurso que se realiza en Barra de Navidad, Jalisco ($n = 10$), Mazatlán, Sinaloa ($n = 45$), y La Paz, Baja California Sur ($n = 45$). De cada organismo se extrajeron el corazón y un fragmento de hígado, evitando la contaminación cruzada entre muestras individuales. Los tejidos se preservaron en etanol (95%) y se refrigeraron hasta su procesamiento en el laboratorio.

Extracción y purificación de ADN

El ADN genómico total se extrajo de *ca* 10 mg de tejido que se maceraron e incubaron durante la noche a temperatura ambiente en 500 μ L de DNAzol (Molecular Research Center, Inc.) y 100 μ g de proteinasa K (Gibco BRL). Se siguió el protocolo del fabricante para la purificación del ADN, el cual se precipitó con 250 μ L y se enjuagó con 800 μ L de etanol al 100% y 75%, respectivamente. El ADN purificado se redisolvió en 50 μ L de amortiguador TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0). La cantidad y calidad del ADN extraído se estimaron visualmente en geles de agarosa al 1% (0.5 \times TBE) teñidos con bromuro de etidio (0.25 μ g/L).

Amplificación de ADN

Para cada organismo se amplificó un fragmento del ADNmt que incluye la totalidad de la región de control, abarcando parte del gen del ARN de transferencia de prolina (ARNt^{pro}) hasta el inicio del gen que codifica la subunidad pequeña del ARN ribosomal mitocondrial (12S ADNr). Se utilizaron promotores universales degenerados ProDG (YYACCNNYRRCNCCCAAAGC) y 12Sar (AAACTRGGATTAGATACCCYAYTAT) (Palumbi, 1996) en reacciones de 25 ó 50 μ L (180 μ M dNTPs, 3.5 mM MgCl₂, 200 mM cada promotor, amortiguador de PCR PROMEGA, 1.5–2.0 U *Taq* DNApol PROMEGA). En todos los experimentos se incluyeron controles negativos para verificar la ausencia de contaminación. Se utilizó un termociclador Perkin-Elmer 480

red snapper juveniles are an important bycatch of shrimp trawling operations (Rocha-Olivares, 1998).

Even though there is biological evidence suggesting phenotypic differentiation of *L. peru* along the Mexican coast, there is no genetic information available to assist in adequate management plans. This kind of information is needed both for the proper interpretation of biological and ecological data from an evolutionary perspective and for a better understanding of the biological and environmental forces shaping the population structure of the species.

Materials and methods

Sampling

Sampling was carried out in the Pacific states of Jalisco (January 2000), Sinaloa (May 2000) and Baja California Sur (June 2000), which sustain important catches of the species. Organisms were sampled from the commercial catch near Barra de Navidad, Jalisco ($n = 10$), Mazatlán, Sinaloa ($n = 45$), and La Paz, Baja California Sur ($n = 45$). Heart and liver tissues were dissected from individuals, minimizing cross-contamination. Tissues were preserved in 95% ethanol and refrigerated until laboratory analyses.

DNA extraction and purification

Total genomic DNA was extracted from *ca* 10 mg of ground tissue incubated overnight at room temperature in 500 μ L DNAzol (Molecular Research Center, Inc.) and 100 μ g proteinase K (Gibco BRL). Subsequent steps were from the manufacturer's protocol. Briefly, DNA was purified by precipitation in 250 μ L 100% ethanol and subsequently rinsed with 800 μ L 75% ethanol. Purified DNA was resuspended in 50 μ L TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0). DNA quantity and quality were checked visually in 1% agarose gels (0.5 \times TBE) stained with ethidium bromide (0.25 μ g/L).

DNA amplification

For each fish, we amplified a fragment of the mtDNA spanning the entire control region, from the end of proline transfer RNA gene (ARNt^{pro}) to the start of the gene coding for the small subunit of ribosomal RNA (12S rDNA). Degenerate universal primers ProDG (YYACCNNYRRCNCCCAAAGC) and 12Sar (AAACTRGGATTAGATACCCYAYTAT) (Palumbi, 1996) were used in 25 or 50 μ L PCR reactions (180 μ M dNTPs, 3.5 mM MgCl₂, 200 mM of each primer, PROMEGA PCR buffer, 1.5–2.0 U *Taq* DNApol PROMEGA). A negative control was included in all PCR reactions to check for contamination. The amplification profile for a Perkin-Elmer 480 thermal cycler consisted in: initial denaturation of 7 min at 80°C, followed by 35 cycles of: 15 sec at 95°C, 45 sec at 45°C, 90 sec at 72°C, and a final extension of 5 min at 72°C. PCR products were checked in 1% agarose gels stained with ethidium bromide (0.25 μ g/L).

con una desnaturalización inicial de 7 min a 80°C, seguida de 35 ciclos con el siguiente perfil: 15 seg a 95°C, 45 seg a 45°C, 90 seg a 72°C, y una extensión final de 5 min a 72°C. Los productos de la reacción se verificaron en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio (0.25 µg/L).

Digestión con enzimas de restricción (RFLP)

Los productos de PCR fueron digeridos con cinco enzimas de restricción (*Hsp92II*, *SspI*, *CfoI*, *HaeIII* y *MseI*) con secuencias de reconocimiento de cuatro y seis bases. Las enzimas se eligieron por ser polimórficas en secuencias ortólogas de tres organismos recolectados en Oaxaca que no se incluyen en el estudio. Se digirieron 5 µL del producto de PCR siguiendo las indicaciones del fabricante y los fragmentos fueron separados electroforéticamente en geles de agarosa al 2%. Para los productos digeridos con *MseI* se utilizaron geles de poliacrilamida (29:1) al 8%. Los geles fueron teñidos con bromuro de etidio (0.25 µg/L) y posteriormente fotografiados y digitalizados para su análisis cuantitativo. Los patrones de restricción obtenidos de las enzimas se combinaron en un haplotipo compuesto para cada organismo.

Análisis de datos

La localización de los sitios de restricción (mapeo de sitios) se hizo con la ayuda de secuencias de ADN de tres organismos de Oaxaca. Se estimaron distancias genéticas interhaplotípicas a partir de la presencia o ausencia de sitios de restricción de acuerdo con Nei y Miller (1990, ec. 4). Los valores de diversidad genética haplotípica y nucleotídica se estimaron de acuerdo con Nei (1987, ec. 8.4 y 10.14) y la divergencia nucleotídica se calculó basándose en la tasa de sustitución de nucleótidos por sitio por haplotipo según el modelo de Nei y Tajima (1981, ec. 22). La homogeneidad en la distribución de los haplotipos se probó utilizando el estadístico χ^2 y su significancia se estimó vía 1000 simulaciones Monte Carlo (Roff y Bentzen, 1989). Estos análisis se realizaron con el programa REAP 4.0 (McElroy *et al.*, 1992). Se calcularon índices de fijación entre las regiones como F_{ST} (Wright, 1978) y su análogo molecular Φ_{ST} , incorporando una matriz de distancias euclidianas interhaplotípicas (Excoffier *et al.*, 1992). Finalmente, se realizó un análisis de variancia molecular (AMOVA, Excoffier *et al.*, 1992) para estimar la variabilidad genética molecular explicada por distintos niveles jerárquicos de organización (e.g., dentro de poblaciones, entre poblaciones dentro de una región y entre regiones). Estos últimos análisis se realizaron con el programa Arlequín 2.0 (Schneider *et al.*, 1999) en el que la significancia estadística de los índices se calculó mediante métodos exactos (Guo y Thompson, 1992). Se reconstruyó un árbol filogenético *Neighbor-Joining* (NJ, Saitou y Nei, 1987) con las distancias de Nei y Tajima con el programa Mega 2.1 (Kumar *et al.*, 2001). La raíz del árbol se infirió utilizando el haplotipo compuesto generado de la secuencia ortóloga de *L. campechanus* (GenBank AF239677) como grupo de referencia (*outgroup*).

Restriction enzyme digestion

PCR products were digested with five restriction enzymes (*Hsp92II*, *SspI*, *CfoI*, *HaeIII* and *MseI*) with four and six base pair (bp) recognition sequences to detect restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). The choice of enzymes was based on their being polymorphic in three fish collected in Oaxaca not included in this study. Five micro liters of PCR product were digested following the manufacturer's protocols and restriction fragments were separated by electrophoresis in 2% agarose gels. Fragments obtained in *MseI* digestions were electrophoresed in 8% polyacrylamide (29:1) gels. All gels were stained with ethidium bromide (0.25 µg/L) and were subsequently photographed and digitized for quantitative analyses. Individual restriction patterns for each enzyme were combined in a composite haplotype for each organism.

Data analysis

Mapping of restriction sites was made with a known sequence from one of the three fish from Oaxaca. Presence or absence of restriction sites was used to compute inter-haplotype genetic distances following Nei and Miller (1990, eq. 4). Haplotype and nucleotide diversities were calculated according to Nei (1987, eq. 8.4 and 10.14) and nucleotide divergence following Nei and Tajima (1981, eq. 22). Haplotype homogeneity among samples was tested using χ^2 and statistical significance was estimated via 1000 Monte Carlo simulations (Roff and Bentzen, 1989). These analyses were made with the program REAP 4.0 (McElroy *et al.*, 1992). We computed fixation indices F_{ST} (Wright, 1978) and their molecular analogue Φ_{ST} , using a matrix of inter-haplotype Euclidean distances (Excoffier *et al.*, 1992). Finally, an analysis of molecular variance (AMOVA, Excoffier *et al.*, 1992) was carried out to estimate partitioning of total genetic variance among different hierarchical levels of organization (e.g., within populations, among populations within regions, and between regions). These analyses were carried out with the program Arlequín 2.0 (Schneider *et al.*, 1999) and statistical significance was computed using exact methods (Guo and Thompson, 1992). A Neighbor-Joining (NJ, Saitou and Nei, 1987) phylogenetic tree was reconstructed using Nei and Tajima's distance with the program Mega 2.1 (Kumar *et al.*, 2001). The tree was rooted by outgroup with the inferred composite haplotype of an orthologous sequence from *L. campechanus* (GenBank AF239677).

Results

Molecular diversity

The amplified fragment was 1350 bp long. All enzymes were polymorphic and the number of restriction sites for each ranged from 2 in *SspI* to 22 in *MseI*, with a total of 41 restriction patterns. A total of 60 composite haplotypes were

Resultados

Diversidad molecular

El tamaño del fragmento amplificado fue de 1350 pares de bases. Todas las enzimas fueron polimórficas y los sitios de restricción por enzima variaron de 2 en *SspI* hasta 22 en *MseI*, encontrándose un total de 41 patrones de restricción. Se observaron un total de 60 haplotipos compuestos entre los 100 organismos analizados (tabla 1), de los cuales 31 se presentaron en Sinaloa, 32 en Baja California Sur (BCS), y 9 en Jalisco. Los haplotipos dominantes (1 y 2 en tabla 1) se encontraron en

found in the 100 fish analyzed (table 1), of which 31 were found in Sinaloa, 32 in Baja California Sur (BCS), and 9 in Jalisco. The most abundant haplotypes (1 and 2 in table 1) were found in 26% of the fish; haplotype 2 was most abundant in BCS, whereas both were equally abundant in Sinaloa (table 1). The samples from Sinaloa and BCS contained comparable numbers of singleton haplotypes, whereas only 2 of the 60 were ubiquitous. Average haplotype (0.966) and nucleotide (3.23%) diversities were high, and they were highest in Jalisco and lowest in Sinaloa (table 2). The limited sample size from Jalisco calls for caution in the interpretation of diversity indices for this population.

Tabla 1. Frecuencias de haplotipos compuestos por localidad de muestreo.
Table 1. Composite haplotype frequencies by locality.

	Haplotype	Sinaloa	BCS	Jalisco	Total		Haplotype	Sinaloa	BCS	Jalisco	Total
1	AAAAB	9	2	2	13	31	ABABW	1	0	0	1
2	AAAAA	7	6	0	13	32	ABAAB	0	1	0	1
3	BAAAA	1	0	0	1	33	AAAAQ	0	1	0	1
4	AAACC	1	0	0	1	34	AAAAR	0	2	0	2
5	GAAAD	1	0	0	1	35	AAABS	0	1	0	1
6	AAAAE	1	0	0	1	36	ABAAL	0	1	0	1
7	AAABI	1	0	0	1	37	FAAAM	0	2	0	2
8	FAABF	1	0	0	1	38	ABAAS	0	1	0	1
9	AAABG	1	0	0	1	39	ABAAP	0	1	0	1
10	EBABA	1	0	0	1	40	AAAAU	0	1	0	1
11	AAABH	1	0	0	1	41	ABAAP	0	1	0	1
12	AAABA	1	2	0	3	42	AAAAV	0	2	0	2
13	CAACA	1	0	0	1	43	FAAAA	0	2	0	2
14	AAAAI	1	0	0	1	44	FAAAV	0	1	0	1
15	DAAAJ	1	0	0	1	45	FBABV	0	1	0	1
16	ABAAO	1	0	0	1	46	AAAAX	0	2	0	2
17	AAAAF	1	1	0	2	47	CAAAW	0	1	0	1
18	CAAAB	1	0	0	1	48	CAABA	0	1	0	1
19	BAAAL	1	1	0	2	49	AAABF	0	1	0	1
20	AAABB	1	1	0	2	50	AAAAZ	0	1	0	1
21	FAAAF	1	0	1	2	51	CAACB	0	1	0	1
22	CAAAA	1	1	0	2	52	AAAAY	0	1	1	2
23	BAAAB	1	0	0	1	53	DAAAB	0	0	1	1
24	ABAAM	1	0	0	1	54	AAABU	0	0	1	1
25	BBAAA	1	0	0	1	55	DAAAV	0	0	1	1
26	AAAAD	1	0	0	1	56	HAAAS	0	0	1	1
27	AAAAT	1	0	0	1	57	DAABN	0	0	1	1
28	BABAJ	1	0	0	1	58	AABAA	0	1	0	1
29	AAAAN	1	1	1	3	59	AAAAK	0	1	0	1
30	CAA AJ	1	0	0	1	60	AAAAL	0	2	0	2

el 26% de los organismos; en BCS predominó el número 2 mientras que en Sinaloa ambos fueron abundantes (tabla 1). Sinaloa y BCS presentaron casi el mismo número de haplotipos únicos, mientras que sólo 2 de los 60 haplotipos fueron encontrados en las tres localidades. Las diversidades medias haplotípica (0.966) y nucleotídica (3.23%) fueron elevadas, presentando Jalisco los valores más altos y Sinaloa los más bajos (tabla 2). El número limitado de muestras procedentes de Jalisco obliga a interpretar con cautela las estimaciones de diversidad de esta población.

Diferenciación genética

La divergencia entre poblaciones fue muy baja, alcanzando tan solo un máximo de 0.004% entre Sinaloa y BCS (tabla 3). Las distancias medias interhaplotípicas dentro de cada localidad promediaron 0.036, incluyendo a Jalisco, y fueron muy similares en Sinaloa y BCS (0.034 y 0.033, respectivamente), consecuentemente las distancias medias entre ambas localidades y Jalisco fueron iguales (0.036, tabla 3).

La prueba de homogeneidad de las frecuencias haplotípicas no fue significativa ($\chi^2 = 125.1$, $P > 0.25$), por lo que no se rechazó la hipótesis nula de homogeneidad entre las poblaciones. El índice de fijación sugiere que sólo el 0.6% de la variabilidad genética haplotípica se encuentra distribuida entre las poblaciones y no es significativamente distinto de cero ($F_{ST} = 0.0062$, $P = 0.140$). Si bien la inclusión de la diferenciación molecular eleva dicha proporción a 1.9%, la diferenciación es marginalmente no significativa ($\Phi_{ST} = 0.0194$, $P = 0.056$). Cabe señalar que el tamaño de muestra de Jalisco limita el poder estadístico de las pruebas que la incluyen.

El AMOVA demostró que las fracciones de la variabilidad genética atribuibles a diferencias entre las dos poblaciones continentales y la peninsular, o a las poblaciones dentro de cada región, no son significativas ($\Phi_{CT} = -0.052$, $P = 0.66$; tabla 4a). Sin embargo, el índice Φ_{ST} obtenido fue marginalmente significativo ($\Phi_{ST} = 0.0116$, $P = 0.048$). La exclusión de la muestra de Jalisco en el AMOVA corroboró la ausencia de diferenciación molecular entre los organismos de Sinaloa y BCS ($\Phi_{ST} = 0.001$, $P = 0.36$; tabla 4b), lo que confirma que la inclusión o exclusión de estos organismos ($n = 10$) no afecta el resultado principal de los análisis de estructura genética.

Tabla 3. Distancias nucleotídicas promedio dentro (diagonal) y entre (bajo diagonal) poblaciones y valores de divergencia nucleotídica entre poblaciones (sobre diagonal)

Table 3. Average nucleotide distances within (diagonal) and among (below diagonal) populations and nucleotide divergence among populations (above diagonal).

	Sinaloa	BCS	Jalisco
Sinaloa	0.034	0.004%	0.0%
BCS	0.033	0.033	0.0%
Jalisco	0.036	0.036	0.039

Tabla 2. Diversidades haplotípica y nucleotídica.

Table 2. Haplotype and nucleotide diversities.

	Haplotípica (h)	Nucleotídica (π)
Sinaloa	0.942	2.70%
BCS	0.977	3.20%
Jalisco	0.978	3.80%
Promedio	0.966	3.23%

Genetic differentiation

Genetic divergence was very small among populations, with a maximum of 0.004% between Sinaloa and BCS (table 3). Average inter-haplotype distances within each sample were 0.036 overall, including Jalisco, and they were very similar in Sinaloa and BCS (0.034 and 0.033, respectively). Consequently, average distances between the latter localities and Jalisco were the same (0.036, table 3).

The null hypothesis of homogeneity could not be rejected ($\chi^2 = 125.1$, $P > 0.25$); therefore, no significant genetic heterogeneity was found. The fixation index reflects that only 0.6% of the haplotype genetic variability is found among populations and is not significantly different from zero ($F_{ST} = 0.0062$, $P = 0.140$). Incorporation of the levels of molecular differentiation increases the proportion to 1.9%, but the differentiation is still non-significant, albeit marginally ($\Phi_{ST} = 0.0194$, $P = 0.056$). It is worth noticing that the limited size of the sample from Jalisco limits the statistical power of the tests that include it.

AMOVA results indicated that the amount of genetic variance between continental and peninsular populations or between populations in each region was not significant ($\Phi_{CT} = -0.052$, $P = 0.66$; table 4a). However, the Φ_{ST} index was marginally significant ($\Phi_{ST} = 0.0116$, $P = 0.048$). The exclusion of the small Jalisco sample from the AMOVA confirmed the absence of molecular differentiation between fish from Sinaloa and BCS ($\Phi_{ST} = 0.001$, $P = 0.36$; table 4b), thus corroborating that the inclusion or exclusion of this sample ($n = 10$) does not alter the major finding of absence of genetic differentiation.

The NJ reconstruction based on inter-haplotype distances does not show any phylogeographic pattern, and haplotypes from the three localities are scattered poliphyletically throughout the topology (fig. 1).

Discussion

Molecular genetic diversity

Levels of mitochondrial haplotype and nucleotide diversity were high in *L. peru*. However, since different regions of the mtDNA molecule evolve at different rates (Randi, 2000), a direct comparison with other results is not necessarily straightforward. A direct comparison may be justified with results obtained from the orthologous control region of other species.

Tabla 4. Análisis de variancia molecular (AMOVA) realizado sobre los datos de PCR-RFLPs de ADNmt del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*: (a) considerando las tres muestras en donde las regiones representan las poblaciones continentales por un lado (Sinaloa y Jalisco) y la peninsular por el otro (La Paz, BCS); (b) excluyendo la muestra de Jalisco.

Table 4. Analysis of molecular variance (AMOVA) based on mtDNA PCR-RFLPs of Pacific red snapper *Lutjanus peru*: (a) including three samples, where regions represent the continental (Sinaloa and Jalisco) and peninsular (La Paz, BCS) populations; (b) excluding the sample from Jalisco.

	Fuente de variación	Grados de libertad	Índices de fijación	Porcentaje de variación	Grado de significancia
(a)	Entre regiones	1	$\Phi_{CT} = -0.052$	-5.20	$P = 0.66$
	Entre poblaciones dentro de regiones	1	$\Phi_{SC} = 0.060$	6.34	$P = 0.99$
	Dentro de poblaciones	97	$\Phi_{ST} = 0.012$	98.84	$P = 0.048$
(b)	Entre Sinaloa y BCS	1	$\Phi_{ST} = 0.001$	0.10	$P = 0.36$
	Dentro de poblaciones	88		99.90	

Tabla 5. Valores de diversidad haplotípica (h), nucleotídica (π) y de divergencia nucleotídica (d) mitocondrial en algunos peces óseos marinos.

Table 5. Mitochondrial haplotype (h) and nucleotide (π) diversities, and nucleotide divergence (d) in species of marine teleosts.

Especie	h	π (%)	d (%)	Referencia
<i>Cynoscion regalis</i>	0.13	1.3	0.13	Graves <i>et al.</i> , 1992b
<i>Xiphias gladius</i>	0.64	0.19	0.88	Grijalva-Chon <i>et al.</i> , 1994
<i>Pomatomus saltatrix</i>	0.70	1.23	1.23	Graves <i>et al.</i> , 1992a
<i>Pogonias cromis</i>	0.78		0.48	Gold <i>et al.</i> , 1994
<i>Lutjanus campechanus</i>	0.75		0.5	Gold <i>et al.</i> , 1994
<i>Lutjanus campechanus</i>	0.81			Camper <i>et al.</i> , 1994
<i>Tetrapturus audax</i>	0.82	0.3	0.03	Graves y McDowell, 1994
<i>Phoxinus eos</i>			0.12	Toline, 1995
<i>Lutjanus campechanus</i>		0.2		Gold <i>et al.</i> , 1997
<i>Pagrus major</i>	0.89		0.99	Tabata y Mizuta, 1997
<i>Xiphias gladius</i>	0.92			Chow <i>et al.</i> , 1997
<i>Scianops ocellatus</i>	0.95		0.88	Gold <i>et al.</i> , 1994
<i>Mugil cephalus</i>	1	1.5		Rocha-Olivares <i>et al.</i> , 2000

El árbol NJ construido con las distancias interhaplotípicas no muestra un patrón filogeográfico, al encontrarse los haplotipos de las tres localidades dispersos polifiléticamente en todos los linajes (fig. 1).

Discusión

Diversidad genética molecular

Los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica mitocondrial de *L. peru* fueron altos. No obstante, puesto que diferentes regiones del ADNmt presentan distintas tasas de evolución (Randi, 2000), la comparación directa con otros resultados no es tan evidente. En principio, dichas comparaciones deberían de hacerse sobre la región de control ortóloga de otras especies. Además, la utilización de diferentes herramientas moleculares puede dar también diferentes valores de

However, different molecular tools may yield different estimates of genetic diversity even for the same region of the genome. RFLP-based estimates of molecular diversity may vary and increase with the number and type of endonucleases used (Graves *et al.*, 1992a). This observation is not without exceptions as hypervariable enzymes can sometimes be found, as in the case of *MseI* for the control region of *L. peru*. Generally speaking, the molecular diversity found in *L. peru* was larger than that observed in other fish using RFLPs of the entire mtDNA (Graves *et al.*, 1992a, 1992b; Grijalva-Chon *et al.*, 1994; Gold *et al.*, 1997) (table 5). This can be explained by the higher rate of evolution of the mitochondrial control region compared to the average for the entire genome (Brown *et al.*, 1993). However, some diversity estimates based on whole mtDNA RFLPs such as those of Gold *et al.* (1994), for three marine fish, and Camper *et al.* (1993), for the Gulf of Mexico red snapper, are comparable with those reported here. It is

diversidad para una misma región del genoma. En el caso de los RFLPs, los valores de diversidad aumentan con el número y el tipo de enzimas utilizadas (Graves *et al.*, 1992a), aunque esta relación no siempre se verifica ya que pueden encontrarse enzimas hipervariables como *MseI* para la región de control de *L. peru*. En general, la diversidad molecular del huachinango fue mayor que la observada en otros peces en RFLPs de toda la molécula del ADNmt (Graves *et al.*, 1992a, 1992b; Grijalva-Chon *et al.*, 1994; Gold *et al.*, 1997) (tabla 5). Esto puede ser explicado por la diferencia entre la tasa de evolución media de todo el genoma mitocondrial y la de la región de control (Brown *et al.*, 1993). Sin embargo, los valores de diversidad reportados en estudios en los que se ha utilizado todo el ADNmt tales como los de Gold *et al.* (1994), para tres especies de peces marinos, y los de Camper *et al.* (1993), para el huachinango del Golfo de México, son parecidos a los observados en ese trabajo. Cabe notar que, si bien la mayoría de los estudios en los que se ha utilizado exclusivamente la región control también han producido altas diversidades (e.g., Graves y McDowell, 1994; Chow *et al.*, 1997; Tabata y Mizuta, 1997), en ellos se ha usado un mayor número de enzimas de restricción (8 a 13), por lo que los valores aquí reportados obtenidos con cinco enzimas pueden ser considerados excepcionalmente altos. En efecto, valores de magnitud comparable son más típicamente obtenidos a partir de secuenciación directa de toda la región de control (e.g., Rocha-Olivares *et al.*, 2000).

Tanto la diversidad haplotípica como la nucleotídica están afectadas por eventos demográficos históricos y contemporáneos. Las distintas combinaciones de valores altos y bajos de ambas diversidades pueden ser indicativas de características de la historia de vida de las poblaciones. Altos valores en ambas diversidades, como las encontradas para *L. peru*, pueden ser atribuibles a un contacto secundario entre linajes alopatricos previamente diferenciados, o bien a una gran población estable con una larga historia evolutiva (Grant y Bowen, 1998). La alta diversidad nos permite suponer un tamaño poblacional efectivo considerable, ya que la variabilidad de la molécula de ADNmt es muy sensible a fenómenos como cuellos de botella, y en poblaciones de tamaño efectivo pequeño la variabilidad suele ser muy baja (Avise *et al.*, 1984). La inferencia de un tamaño poblacional considerable es congruente con lo reportado por Espino-Barr *et al.* (1998) y Cruz-Romero *et al.* (2001, com. pers.) a partir de análisis cuantitativos de datos pesqueros.

Estructura poblacional

Para la mayoría de los peces pelágicos que han sido estudiados no se ha encontrado heterogeneidad entre poblaciones alopatricas (e.g., Graves *et al.*, 1984; Graves y Dizon, 1989; Scoles y Graves, 1993; Grijalva-Chon *et al.*, 1994; Toline y Baker, 1994). Esto se ha relacionado con una alta capacidad de dispersión (Graves, 1998). Si bien será necesario incrementar tanto el tamaño de algunas muestras como el número de poblaciones estudiadas para corroborar qué tan generalizables son nuestros hallazgos a lo largo de la costa del

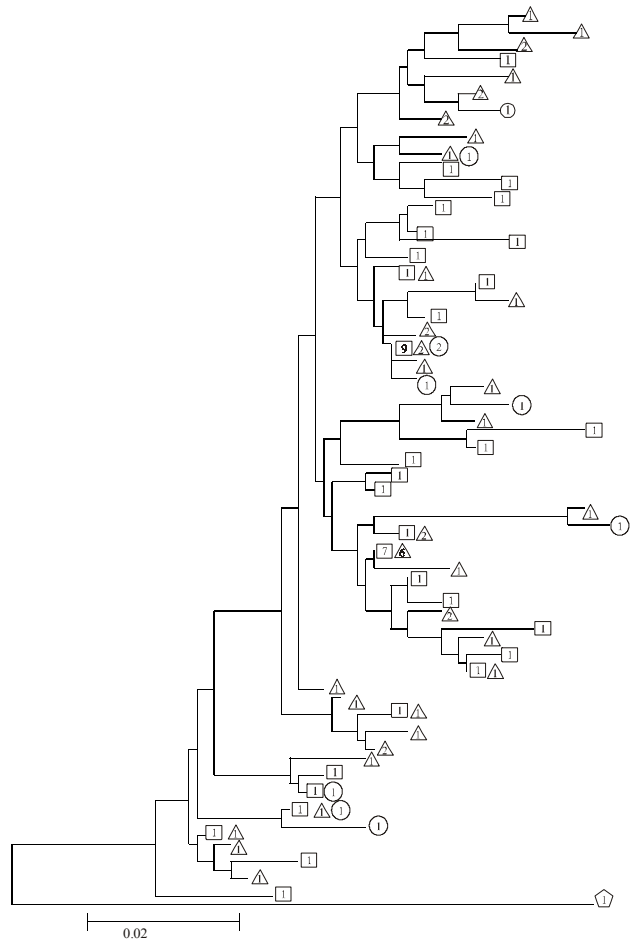


Figura 1. Árbol filogenético Neighbor-Joining de haplotipos mitocondriales de *Lutjanus peru* de Sinaloa (□), Baja California Sur (△) y Jalisco (○), y de *L. campechanus* (◇). Los números dentro de los símbolos representan el número de organismos que compartieron dicho haplotipo.

Figure 1. Neighbor-Joining phylogenetic tree of mitochondrial haplotypes of *Lutjanus peru* from Sinaloa (□), Baja California Sur (△) and Jalisco (○), and of *L. campechanus* (◇). Figures within symbols represent the number of organisms sharing the haplotype.

worth mentioning that even though studies that have focused on the control region tend to yield high diversity estimates (e.g., Chow *et al.*, 1997; Graves and McDowell, 1994; Tabata and Mizuta, 1997), the number of enzymes typically used has been larger (8–13) than in this study (5), so the high diversity estimates reported here may be considered as exceptional. In fact, these levels of molecular diversity are more typical of studies using direct sequences of the entire control region (e.g., Rocha-Olivares *et al.*, 2000).

Levels of haplotype and nucleotide diversity are both influenced by historical and contemporary demographic events. Different combinations of high and low diversities of each may reflect different features of population dynamics. A combination of high haplotype and nucleotide diversity, such as those of *L. peru*, may be explained by a secondary contact between lineages previously differentiated in allopatry or a large and

Pacífico mexicano, la ausencia de heterogeneidad encontrada en *L. peru* no concuerda con la observación de que adultos y juveniles son esencialmente sedentarios, sin extensas migraciones y que están típicamente asociados con sustratos específicos (Allen, 1985, 1987; Allen y Robertson, 1994; Díaz-Uribe y Elorduy-Garay, 1994). En el caso del huachinango del Golfo de México, que es ecológicamente similar, también se ha encontrado una homogeneidad genética (Camper *et al.*, 1993; Gold *et al.*, 1994, 1997). La homogeneidad observada puede ser explicada de dos maneras:

1. A pesar de que la falta de una estructura genética ha sido tomada como un resultado de la existencia de un flujo genético contemporáneo, el grado de diferenciación entre poblaciones no sólo depende del aislamiento reproductivo, sino también es influenciado por procesos evolutivos como la selección natural, la deriva génica, la tasa de mutación y el tiempo de aislamiento (Chakraborty y Leimar, 1987). A pesar de existir una alta variabilidad dentro de poblaciones reproductivamente aisladas, el establecimiento de divergencias suele ser complejo, porque la estructura social y geográfica así como el tamaño de la población reproductiva pueden afectar el tiempo de diversificación genética de los linajes, manteniendo la homogeneidad entre poblaciones aisladas por largo tiempo (Hoelzel, 1998). Por tanto, la falta de heterogeneidad entre las poblaciones puede deberse a un aislamiento muy reciente.
2. Más de un aspecto de la historia de vida de la especie promueve el flujo genético entre las poblaciones. Para organismos con estadios adultos y juveniles sedentarios, el transporte pasivo de huevos y larvas por advección puede ser un mecanismo importante para el flujo genético de la especie (Shaklee y Samollow, 1984).

Aunque diversos estudios genéticos poblacionales en especies con estadios larvarios pelágicos variables no han encontrado una relación clara, se ha propuesto que la estructura poblacional de los peces marinos se encuentra ligada a la duración del estadio larvario pelágico (PLD, por sus siglas en inglés), variando la heterogeneidad interpoblacional de manera inversa a la duración del PLD (Doherty *et al.*, 1995). Aunque hay muy poca información sobre los estadios tempranos de *L. peru*, existen datos para la familia Lutjanidae (Leis, 1987). Las larvas meroplánctónicas de lutjánidos son poco comunes en relación con las de otros grupos. Esto no necesariamente implica la ausencia de un estadio meroplánctónico prolongado, sino que puede explicarse por el hecho de que los adultos son menos abundantes que otros peces en las comunidades en las que son depredadores. Además, a pesar de que la mayoría de las larvas se encuentran en la plataforma continental y en la misma área que los adultos, se han reportado larvas de huachinango del golfo a 160 km de la costa en el Golfo de México, por lo que considerando que el periodo larvario en la familia Lutjanidae es de entre 25 y 47 días, tal vez las larvas de *L. peru*

stable population with a long evolutionary history (Grant and Bowen, 1998). The high diversity levels observed are consistent with a large effective population size, since variability in the mtDNA is very sensitive to demographic events such as population bottlenecks. Populations with a small effective size tend to show very depressed levels of variability (Avise *et al.*, 1984). The inference of a large and stable population of *L. peru* is consistent with other quantitative analyses based on fishery data (Espino-Barr *et al.*, 1998; Cruz-Romero, pers. comm.).

Population structure

Allopatric populations of most pelagic fish that have been studied genetically usually lack significant levels of genetic heterogeneity (e.g., Graves *et al.*, 1984; Graves and Dizon, 1989; Scoles and Graves, 1993; Grijalva-Chon *et al.*, 1994; Toline and Baker, 1994). This has been attributed to their high dispersal capabilities (Graves, 1998). Even though larger sample sizes and additional localities along the Pacific coast of Mexico will be required to verify the extent of the patterns found in this study, the absence of genetic heterogeneity in *L. peru* is at odds with the observations that adult and juvenile stages are mostly sedentary, lacking extensive migrations, and are typically associated with specific substrates (Allen, 1985; Allen, 1987; Allen and Robertson, 1994; Díaz-Uribe and Elorduy-Garay, 1994). An absence of genetic heterogeneity has also been observed in the Gulf of Mexico red snapper, an ecologically similar congener (Camper *et al.*, 1993; Gold *et al.*, 1994, 1997). The observed genetic homogeneity may result from different processes.

1. Even though the absence of genetic structure can be interpreted as the result of contemporary gene flow, the extent of genetic differentiation among populations does not only depend on reproductive isolation and gene flow. Other evolutionary processes such as natural selection, genetic drift, mutation, and time since divergence may play an important role (Chakraborty and Leimar, 1987). Even in the presence of high levels of genetic variability in reproductively isolated populations, the process of genetic divergence may be intricate. The existence of social structures, widespread geographic distributions, and large effective population sizes may influence the diversification rate of genetic lineages by maintaining genetic homogeneity among populations isolated for long periods of time (Hoelzel, 1998). Thus, the absence of genetic heterogeneity may be the result of a very recent isolation.
2. Gene flow among populations may be realized by different life history stages. For organisms with sedentary adult and juvenile stages, passive advection of planktonic eggs and larvae provide the most important dispersal mechanism for gene flow (Shaklee and Samollow, 1984).

In marine fishes, the expected inverse relationship between the length of the pelagic larval duration (PLD) and the level of

pueden dispersarse grandes distancias con las corrientes adecuadas.

La Corriente de California puede llegar hasta el sur de Sinaloa durante parte de la primavera y el verano (Badan, 1997), coincidiendo con el primer (de febrero a abril) y parte del segundo (de junio a octubre) desove masivo de *L. peru* en algunas poblaciones continentales (Santamaría, 1998). La Corriente Costera de Costa Rica entra al sur del Golfo de California todo el año, pero recorre parte de la costa Pacífico de la península sólo durante el otoño y el invierno (Badan, 1997), coincidiendo con parte del segundo (de junio a octubre) desove masivo de *L. peru* (Santamaría, 1998). Si bien estas corrientes pueden ayudar al transporte pasivo de larvas y huevos tanto del continente a la península como en sentido contrario, la contribución de la migración activa de adultos al flujo genético entre poblaciones alopátricas no puede ser totalmente descartada y requiere de estudios adicionales.

Patrón filogeográfico

Aunque algunos linajes mitocondriales se encuentran dominados por haplotipos de alguna de las poblaciones (fig. 1), los bajos valores de divergencias interpopulacionales nos permiten suponer que las poblaciones no se encuentran aisladas y no presentan un alto potencial para ser heterogéneas en un corto periodo de tiempo evolutivo (poseen un bajo o nulo potencial evolutivo). Esto contrasta con lo reportado por Arnason *et al.* (1992), quienes a pesar de no haber encontrado heterogeneidad entre poblaciones de bacalao, sí observaron un linaje relacionado con la distribución geográfica, así como altos valores de distancia y divergencia nucleotídica. Por ello infirieron que la población de dicho linaje ha estado aislada por sólo un corto periodo de tiempo, pero presenta un alto potencial evolutivo.

Relación genotipo-fenotipo

La ausencia de diferenciación genética en las poblaciones estudiadas concuerda con similitudes fenotípicas en algunas características biológicas, como las tasas de crecimiento instantáneo reportadas por Cruz-Romero *et al.* (1991) en Colima ($K = 0.15$) y Rocha-Olivares (1998) en BCS ($K = 0.13$); aunque ambas difieren de la reportada por González-Ochoa (1997) en Jalisco ($K = 0.091$). Los picos reproductivos son más similares y se extienden de febrero a mayo y de julio a noviembre en Guerrero (Santamaría, 1998); de febrero a mayo y de julio a diciembre en BCS (Reyna-Trujillo, 1994); y de febrero a abril y de julio a noviembre en Colima (Cruz-Romero *et al.*, 1991). No obstante, existen diferencias en las tallas máximas reportadas por Cruz-Romero *et al.* (1991) en Colima (60 cm), González-Ochoa (1997) en Jalisco (70 cm) y Rocha-Olivares (1998) en BCS (90 cm); así como en las tallas de primera madurez estimadas por Cruz-Romero *et al.* (1991) en Colima (25 a 30 cm), Santamaría (1998) en Guerrero (30 a 35 cm) y Rocha-Olivares (1998) en BCS (35 a 40 cm). Diferencias en poblaciones que presentan flujo genético son explicadas

genetic structure remains unclear (Doherty *et al.*, 1995). Even though the information on the early life history stages of *L. peru* is scarce, data are available for other lutjanids (Leis, 1987). The fact that meroplanktonic lutjanid larvae tend to be uncommon compared to other groups may not be a consequence of a short planktonic phase, but may reflect the smaller relative abundance of the adults in communities where they are predators high in the food web. In fact, even though most larvae are found on the continental shelf close to the adult habitat, planktonic larvae of the Gulf of Mexico red snapper have been reported from localities as far as 160 km offshore. Given the known extent of 25 to 47 days of the PLD in lutjanids, larvae of *L. peru* may be able to disperse a considerable distance in the presence of fast ocean currents.

The influence of the California Current may reach as far as the southern shores of the state of Sinaloa during part of the spring and summer (Badan, 1997), coinciding with the first (February–April) and part of the second (June–October) massive spawning events reported in continental populations of *L. peru* (Santamaría, 1998). The Costa Rica Coastal Current, on the other hand, flows north all year long along the continental coast of the Gulf of California and impinges on the peninsular coast only during fall and winter (Badan, 1997), coinciding with part of the second (June–October) continental massive spawning (Santamaría, 1998). The seasonal circulation pattern of the region may thus play an important role in the bidirectional advection of meroplanktonic eggs and larvae between continental and peninsular populations. The active migration of adults, however, cannot be completely ruled out and needs additional attention.

Phylogeographic pattern

Even if the NJ reconstruction shows some mitochondrial lineages that are composed predominantly of haplotypes found in only one of the populations (fig. 1), the very low levels of inter-population divergence are indicative of a lack of isolation and an uncertain potential for heterogeneity and differentiation in a short evolutionary time (i.e., populations have a very small or nil evolutionary potential). This contrasts with the genetic patterns found by Arnason *et al.* (1992) in the Atlantic cod, in which a very divergent lineage was identified in the presence of genetic homogeneity among populations. This lineage possessed a characteristic geographic distribution and high levels of nucleotide divergence that led the authors to infer that even though the population may have been isolated for a short period of time it may possess a high evolutionary potential.

Genotype-phenotype relationships

The absence of genetic differentiation among the populations included in this study is consistent with phenotypic similarities found in other biological attributes, such as the instantaneous individual growth rates reported by Cruz-Romero *et al.* (1991) in Colima ($K = 0.15$) and Rocha-Olivares

por una plasticidad fenotípica expresada en diferencias morfométricas, biológicas o demográficas, y que son inducidas por diferencias bióticas y abióticas en el hábitat (Allendorf *et al.*, 1987). Se obtendrá una mejor apreciación del grado de plasticidad fenotípica de la especie en la medida que se tenga una visión más completa de la estructura poblacional y se conozca mejor su biología a lo largo de su intervalo geográfico.

Agradecimientos

Agradecemos encarecidamente las facilidades brindadas para la obtención de muestras (H. Pérez-España, en Jalisco; H. Plascencia-González y A. van der Heiden, en Sinaloa; J.G. Díaz-Urbe y S. Ramírez-Luna, en BCS) y el acceso a equipo de laboratorio (J. Olmos-Soto, F.J. Márquez-Rocha y A. Licea-Navarro del CICESE, Ensenada, BC; J. de la Rosa-Vélez de la UABC, Ensenada, BC; R.D. Vetter, SWFSC/NMFS, La Jolla EUA). Se aprecian las sugerencias de los revisores anónimos. La investigación fue financiada por CONACYT, proyecto I36064-V, y por CICESE. El trabajo se deriva de la tesis de licenciatura de J.R. Sandoval-Castillo (Mención Honorífica), egresado de la Universidad Autónoma de Baja California Sur, México.

Referencias

- Allen, G.R. (1985). Snappers of the world: An annotated and illustrated catalogue of Lutjanid species known to date. FAO Species Catalog, 6. FAO Fish. Synop., 6(125): 208 pp.
- Allen, G.R. (1987). Synopsis of the circumtropical fish genus *Lutjanus* (Lutjanidae). In: J.J. Polovina and S. Ralston (eds.), Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fisheries Management. Westview Press, Boulder, Colorado, pp. 33–87.
- Allen, G.R. and Robertson, D.R. (1994). Fishes of the Tropical Eastern Pacific. Univ. Hawaii Press, Honolulu, 332 pp.
- Allendorf, F.W., Ryman, N. and Utter, F.M. (1987). Genetics and fishery management: Past, present, and future. In: N. Ryman and F.M. Utter (eds.), Population Genetics and Fishery Management. Univ. Washington Press, Seattle, Washington, pp. 1–19.
- Arnason, E., Palsson, S. and Arnason, A. (1992). Gene flow and lack of population differentiation in Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Iceland and comparison of cod from Norway and Newfoundland. J. Fish Biol., 40: 751–770.
- Avise, J.C. (1994). Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York, 511 pp.
- Avise, J.C., Neigel, J.E. and Arnold, J. (1984). Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. J. Mol. Evol., 20(2): 99–105.
- Badan, A. (1997). La Corriente Costera de Costa Rica en el Pacífico Mexicano. En: M.F. Lavín (ed.), Contribuciones a la Oceanografía Física en México, Monografía 3. Unión Geofísica Mexicana, Ensenada, Baja California, México, pp. 99–112.
- Brown, J.R., Beckenbach, A.T. and Smith, M.J. (1993). Intraspecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Mol. Biol. Evol., 10(2): 326–341.
- Camper, J.D., Barber, R.C., Richardson, L.R. and Gold, J.R. (1993). Mitochondrial DNA variation among red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the Gulf of Mexico. Mol. Mar. Biol. Biotechnol., 2(3): 154–161.

(1998) in BCS ($K = 0.13$); although both differ from the one found by González-Ochoa (1997) in Jalisco ($K = 0.091$). Reproductive activity is more homogeneous and spawning activities peak from February to May and July to November in Guerrero (Santamaría, 1998); from February to May and July to December in BCS (Reyna-Trujillo, 1994); and from February to April and July to November in Colima (Cruz-Romero *et al.*, 1991). On the other hand, maximum lengths are quite variable, such as those reported by Cruz-Romero *et al.* (1991) in Colima (60 cm), González-Ochoa (1997) in Jalisco (70 cm), and Rocha-Olivares (1998) in BCS (90 cm). The same is true of the length at first maturity estimated by Cruz-Romero *et al.* (1991) in Colima (25–30 cm), Santamaría (1998) in Guerrero (30–35 cm), and Rocha-Olivares (1998) in BCS (35–40 cm). Phenotypic differentiation among populations maintaining high levels of gene flow is best explained by phenotypic plasticity, expressed as morphometric, biological or demographic differences induced by different regimes of biotic and abiotic factors in different habitats (Allendorf *et al.*, 1987). A better understanding of the levels of phenotypic plasticity in the species will benefit from a larger picture of its genetic structure and an increased biological characterization throughout its geographic range.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the help provided in sample collection (H. Pérez-España, in Jalisco; H. Plascencia-González and A. van der Heiden, in Sinaloa; J.G. Díaz-Urbe and S. Ramírez-Luna, in BCS), and the access to lab equipment (J. Olmos-Soto, F.J. Márquez-Rocha and A. Licea-Navarro, CICESE, Ensenada, BC; J. de la Rosa-Vélez, UABC, Ensenada, BC; R.D. Vetter, SWFSC/NMFS, La Jolla USA). We thank the two anonymous reviewers for their suggestions. Funding was provided by CONACYT, grant I36064-V, and CICESE. This paper is derived from a B.Sc. thesis by J.R. Sandoval-Castillo graduated (*cum laude*) from the Universidad Autónoma de Baja California Sur, Mexico.

English translation by the authors.

- Chakraborty, R. and Leimar, O. (1987). Genetic variation within a subdivided population. In: N. Ryman and F.M. Utter (eds.), Population Genetics and Fishery Management. Univ. Washington Press, Seattle, Washington, pp. 89–120.
- Chow, S., Okamoto, H., Uozumi, Y., Takeuchi, Y. and Takeyama, H. (1997). Genetic stock structure of the swordfish (*Xiphias gladius*) inferred by PCR-RFLP analysis of the mitochondrial DNA control region. Mar. Biol., 127(3): 359–367.
- Cisneros-Mata, M.A., Montemayor-Lopez, G. and Roman-Rodríguez, M.J. (1995). Life-history and conservation of *Totoaba macdonaldi*. Conserv. Biol., 9(4): 806–814.
- Cruz-Romero, M., Espino-Barr, E., Mimbela-López, J., García-Boa, A., Obregón-Alcaraz, L.F. y Girón-Botello, E. (1991). Biología reproductiva en tres especies del género *Lutjanus* en la costa de Colima, México. Secretaría de Pesca, INP, CRIP Manzanillo, Manzanillo, Colima, 118 pp.

- D'Agrosa, C., Lennert-Cody, C.E. and Vidal, O. (2000). Vaquita bycatch in Mexico's artisanal gillnet fisheries: Driving a small population to extinction. *Conserv. Biol.*, 14(4): 1110–1119.
- Díaz-Urbe, J.G. y Elorduy-Garay, J.F. (1994). Análisis trofodinámico del huachinango (*Lutjanus peru*) en las bahías de La Paz y La Ventana, BCS, México. Tesis de maestría, CICESE, México, 57 pp.
- Doherty, P.J., Planes, S. and Mather, P. (1995). Gene flow and larval duration in seven species of fish from the Great Barrier Reef. *Ecology* (Washington, DC), 76(8): 2373–2391.
- Espino-Barr, E., Cruz-Romero, M. y García-Boa, A. (1998). Análisis de la captura y esfuerzo del huachinango *Lutjanus peru* en la costa de Colima, México (período 1983 a 1997). Memorias del VI Congreso de Ictología.
- Excoffier, L., Smouse, P.E. and Quattro, J.M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2): 479–491.
- Gold, J.R., Richardson, L.R., Furman, C. and Sun, F. (1994). Mitochondrial DNA diversity and population structure in marine fish species from the Gulf of Mexico. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51(Suppl. 1): 205–214.
- Gold, J.R., Sun, F. and Richardson, L.R. (1997). Population structure of red snapper from the Gulf of Mexico as inferred from analysis of mitochondrial DNA. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 126(3): 386–396.
- González-Ochoa, O.A. (1997). Edad y crecimiento de *Lutjanus peru* en la costa sur de Jalisco. Tesis de licenciatura, Universidad de Guadalajara, México, 80 pp.
- Grant, W.S. and Bowen, B.W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J. Heredity*, 89(5): 415–426.
- Grant, W.S., García-Marin, J.L. and Utter, F.M. (1999). Defining population boundaries for fishery management. In: S. Mustafa (ed.), *Genetics in Sustainable Fisheries Management*. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 27–72.
- Graves, J.E. (1998). Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. *J. Heredity*, 89(5): 427–437.
- Graves, J.E. and Dizon, A.E. (1989). Mitochondrial DNA sequence similarity of Atlantic and Pacific albacore tuna (*Thunnus alalunga*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46(5): 870–873.
- Graves, J.E. and McDowell, J.R. (1994). Genetic analysis of striped marlin (*Tetrapturus audax*) population structure in the Pacific Ocean. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51(8): 1762–1768.
- Graves, J.E., Ferris, S.D. and Dizon, A.E. (1984). Close genetic similarity of Atlantic and Pacific skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) demonstrated with restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. *Mar. Biol.*, 79(3): 315–319.
- Graves, J.E., McDowell, J.R., Beardsley, A.M. and Scoles, D.R. (1992a). Stock structure of the bluefish *Pomatomus saltatrix* along the mid-Atlantic coast. *US Fish. Bull.*, 90(4): 703–710.
- Graves, J.E., McDowell, J.R. and Jones, M.L. (1992b). A genetic analysis of weakfish *Cynoscion regalis* stock structure along the mid-Atlantic coast. *US Fish. Bull.*, 90(3): 469–475.
- Grijalva-Chon, J.M., Numachi, K., Sosa-Nishizaki, O. and De la Rosa-Vélez, J. (1994). Mitochondrial DNA analysis of North Pacific swordfish *Xiphias gladius* population structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 115(1–2): 15–19.
- Guo, S. and Thompson, E. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 48: 361–372.
- Hoelzel, A.R. (1998). Genetic structure of cetacean populations in sympatry, parapatry, and mixed assemblages: Implications for conservation policy. *J. Heredity*, 89(5): 451–458.
- Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I.B. and Nei, M. (2001). MEGA 2: Molecular Evolutionary Genetic Analysis software. *Bioinformatics*, 17(12): 1244–1245.
- Leis, J.M. (1987). Review of the early life history of tropical groupers (Serranidae) and snappers (Lutjanidae). In: J.J. Polovina and S. Ralston (eds.), *Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fisheries Management*. Westview Press, Boulder, Colorado, pp. 189–237.
- McElroy, D., Moran, P., Bermingham, E. and Kornfield, I. (1992). The restriction enzyme analysis package (REAP). *Heredity*, 83: 157–158.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York. 512 pp.
- Nei, M. and Miller, J. (1990). A simple method for estimating average number of nucleotide substitutions in and between populations from restriction data. *Genetics*, 125: 873–879.
- Nei, M. and Tajima, F. (1981). DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97: 145–163.
- Palumbi, S.R. (1996). Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. In: D.M. Hillis, C. Moritz and B.K. Mable (eds.), *Molecular Systematics*. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, pp. 205–247.
- Randi, E. (2000). Mitochondrial DNA. In: A.J. Baker (ed.), *Molecular Methods in Ecology*. Blackwell Science, Malden, pp. 136–167.
- Reyna-Trujillo, M. (1994). Desarrollo gonádico y época de desove del huachinango (*Lutjanus peru*) en la bahía de La Paz, BCS, México. Tesis profesional, Universidad de Guadalajara, México, 73 pp.
- Rocha-Olivares, A. (1998). Age, growth, mortality, and population characteristics of the Pacific red snapper, *Lutjanus peru*, off the southeast coast of Baja California, Mexico. *US Fish. Bull.*, 96(3): 562–574.
- Rocha-Olivares, A., Garber, N.M. and Stuck, K.C. (2000). High genetic diversity, large inter-oceanic divergence and historical demography of the striped mullet. *J. Fish Biol.*, 57(5): 1134–1149.
- Roff, D.A. and Bentzen, P. (1989). The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Mol. Biol. Evol.*, 6(5): 539–545.
- Rosel, P.E. and Rojas-Bracho, L. (1999). Mitochondrial DNA variation in the critically endangered vaquita *Phocoena sinus* Norris and Macfarland, 1958. *Mar. Mammal Sci.*, 15(4): 990–1003.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406–425.
- Santamaría, A. (1998). Hábitos alimenticios y ciclo reproductivo del huachinango, *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1992) Pisces: Lutjanidae en Guerrero, México. Tesis de maestría, CICIMAR-IPN, México, 64 pp.
- Schneider, S., Roessli, D. and Excoffier, L. (1999). Arlequin ver 2.0: A software for population genetic data analysis 2.0b1 edit. Genetics and Biometry Lab., Dept. of Anthropology, Univ. of Geneva, Switzerland.
- Scoles, D.R. and Graves, J.E. (1993). Genetic analysis of the population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from the Pacific Ocean. *US Fish. Bull.*, 91(4): 690–698.
- Shaklee, J.B. and Samollow, P.B. (1984). Genetic variation and population structure in a deepwater snapper, *Pristipomoides filamentosus*, in the Hawaiian archipelago. *US Fish. Bull.*, 82(4): 703–713.
- Sinclair, M. (1988). *Marine Population: An Essay on Population Regulation and Speciation*. Univ. Washington, Seattle. 252 pp.
- Tabata, K. and Mizuta, A. (1997). RFLP analysis of the mtDNA D-loop region in red sea bream *Pagrus major* population from four locations of western Japan. *Fish. Sci.*, 63(2): 211–217.

- Toline, C.A. and Baker, A.J. (1994). Genetic differentiation among populations of the northern redbelly dace (*Phoxinus eos*) in Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51(6): 1218–1228.
- Waples, R.S. (1995). Evolutionarily significant units and the conservation of biological diversity under the Endangered Species Act. In: J.L. Nielsen (ed.), *Evolution and the Aquatic Ecosystem: Defining Unique Units in Population Conservation*. American Fisheries Soc. Symp. 17, Bethesda, Maryland, pp. 8–27.
- Watson, W. and Brogan, M.W. (1996). Lutjanidae: Snappers. In: H.G. Moser (ed.), *The Early Life Stages of Fishes in the California Current Region*. CalCOFI Atlas 33. Allen Press, Lawrence, Kansas, pp. 977–989.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. Univ. Chicago Press, Chicago, 580 pp.