

Baja variabilidad y diferenciación genética poblacional en la “lisa”, *Mugil incilis* (Teleostei: Mugilidae) del Caribe colombiano
Low variability and population genetic differentiation in Colombian Caribbean “mullet”, *Mugil incilis* (Teleostei: Mugilidae)

Rafael Mendoza-Ureche¹
Julián F. Quintero-Galvis²
Juan C. Narváez-Barandica^{1*}

¹ Universidad del Magdalena, Laboratorio de Genética Molecular, Santa Marta, Magdalena, Colombia; romu545@gmail.com, jnarvaez@unimagdalena.edu.co

² Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Universidad Austral de Chile, Valdivia, 5090000; julianquintero1924@gmail.com

*Correspondencia

Recibido 26-XI-2018
Corregido 10-IV-2019
Aceptado 23-IV-2019

Abstract

The "Mullet" *Mugil incilis* is one of the most important fish resources of the artisanal fishing industry of the Colombian Caribbean. However, their populations are being overexploited for decades, which together with the deterioration of their habitat could be causing a negative effect on the genetic variability of their populations. In order to generate scientific information to support decisions and more appropriate fisheries management and conservation policies, the variability and genetic structure of *M. incilis* along the Caribbean coast of Colombia was evaluated. Six coastal systems were selected, including three coastal lagoon systems with open access to fishing (Ciénaga La Virgen, Ciénaga La Caimanera and Bahía de Cispatá) and three coastal lagoons belonging to fauna and flora sanctuaries of the network of National Natural Parks of Colombia (Los Flamencos, Ciénaga Grande de Santa Marta and El Corchal). Seven microsatellite loci were used, which revealed 94 alleles with an average of 11.6 alleles per locus. The values of genetic variability in all sampling sites were low ($H_o = 0.108-0.402$), although they showed a high genetic potential ($H_e = 0.772-0.868$). All the loci presented departures from the Hardy-Weinberg expectations due to a deficiency of heterozygotes. This was in agreement with the events of recent bottlenecks that were determined in all the lagoons and the causes could be overfishing and the presence of null alleles. The analysis of genetic structuring revealed the existence of two populations, one formed by the localities located from La Guajira to Sucre; a second in Bahía de Cispatá and the third one in Ciénaga La Caimanera. This study suggests that the processes involved in the level of fishing exploitation, in the reproductive cycle and in the oceanographic conditions of the South Caribbean region determine the genetic variability and structure of *M. incilis*. Recommendations for the management and conservation of *M. incilis* are proposed.

Key words: conservation; genetic variability; microsatellite loci; mullet; *Mugil incilis*; colombian Caribbean.

Resumen

La "Lisa" *Mugil incilis*, es uno de los recursos ícticos más importante de la industria pesquera artesanal del Caribe de Colombia. Sin embargo, sus poblaciones llevan siendo sobreexplotadas por décadas, que en conjunto con el deterioro de su hábitat podrían estar causando un efecto negativo en la variabilidad genética de las mismas. Con el objetivo de generar información científica que permita apoyar decisiones y políticas más adecuadas de manejo pesquero y conservación se evaluó la variabilidad y la estructura genética de *M. incilis* a lo largo de la costa del Caribe de Colombia. Se seleccionaron seis sistemas costeros, entre ellos tres lagunas costeras de acceso abierto a la pesca (Ciénaga La Virgen, Ciénaga La Caimanera y Bahía de Cispatá) y tres santuarios de fauna y flora de la red de Parques Nacionales Naturales de Colombia (los santuarios de fauna y flora Los Flamencos, Ciénaga Grande de Santa Marta y El Corchal). Se utilizaron siete loci microsatélites, los cuales revelaron 94 alelos con un promedio de 11.6 alelos por locus. Los valores de variabilidad genética en todos los sitios de muestreo fueron bajos ($H_o = 0.108-0.402$), aunque demostraron tener un alto potencial genético ($H_e = 0.772-0.868$). Se encontró que todos los loci presentaron desequilibrio de Hardy-Weinberg debido a una deficiencia de heterocigotos. Esto fue concordante con los eventos de cuellos de botellas recientes que se determinaron en todas las lagunas y las causas pueden ser la sobrepesca y la presencia de alelos nulos. Los resultados del análisis de estructuración genética demostraron la existencia de tres poblaciones, una conformada por las localidades ubicadas desde el sector de La Guajira hasta Sucre y una segunda en Bahía de Cispatá y la tercera en la Ciénaga La Caimanera. Este estudio sugiere que los procesos involucrados en el nivel de aprovechamiento pesquero, en el ciclo reproductivo y en las condiciones oceanográficas de la región del Caribe Sur determinan la variabilidad y estructura genética de *M. incilis*. Se proponen recomendaciones para el manejo y conservación de *M. incilis*.

Palabras clave: conservación; variabilidad genética; microsatélites; lisas; *Mugil incilis*; Caribe colombiano.

Introducción

Mugil incilis (Hancock, 1830) es un pez eurihalino conocido comúnmente como lisa en Colombia. Habita ecosistemas acuáticos costeros con conexión al mar en el Caribe, desde Haití y Panamá bordeando la costa atlántica occidental de Suramérica hasta el sureste de Brasil (Bustos-Montes et al., 2012; Harrison, 2002). En Colombia está distribuida desde Bahía de Cispatá hasta Bahía Portete (Rey & Acero, 2002). Tiene una importancia ecológica por su rol trófico en los estuarios y lagunas costeras dado que es un pez detritívoro que al ser depredado ofrece transferencia de materia y energía a niveles tróficos superiores; de igual manera las transfiere al mar adyacente durante el periodo de migración reproductiva (Blanco-Racedo, 1983; Osorio, 1998; Cogua, Jiménez-Reyes, & Duque, 2013). También tiene una importancia pesquera por ser aprovechada comercialmente al registrarse capturas que aportan cerca del 25 % de la producción pesquera de la Ciénaga

Grande de Santa Marta (INVEMAR, 2014) y el 3 % del Caribe de Colombia (De La Hoz-Maestre et al., 2013). A pesar de su importancia ecológica y comercial, estudios ecológicos han documentado que los mayores registros de captura se presentan cuando sale de las lagunas costeras hacia el mar adyacente para reproducirse. Esto limita la renovación poblacional puesto que los ejemplares capturados generalmente están maduros; dentro de las lagunas y estuarios es capturada por debajo de la talla media de madurez sexual con efectos importantes en su abundancia y supervivencia (Blanco-Racedo, 1983; Sánchez-Ramírez, Rueda, & Santos-Martínez, 1998; Narváez-Barandica, Herrera-Pertuz, & Blanco-Racedo, 2008; INVEMAR, 2014). A lo anterior se suman otros factores que afectan su biología poblacional como la calidad ambiental de la mayoría de las aguas de las lagunas y estuarios donde habita debido a la presencia de contaminantes de origen industrial, urbano y agrícola, principalmente en la Ciénaga Grande de Santa Marta, Bahía de Cispatá y la Ciénaga de la Virgen (INVEMAR, 2017). Por ejemplo, estudios de contenidos de organoclorados y metales pesados de *M. incilis* documentaron la presencia de estos contaminantes en peces de esas dos lagunas costeras (Plata, Campo & Ramírez, 1993; Alonso, Pineda, Olivero, González, & Campos, 2000; Burgos-Núñez, Navarro-Frómata, Marrugo-Negrete, Enamorado-Montes, & Urango-Cárdenas, 2017). Como consecuencia de lo anterior, el estrés ambiental está incidiendo en altos niveles de prevalencia de parásitos en *M. incilis* como una indicación del estado vulnerable de sus poblaciones (Bustos-Montes et al., 2012; Jaramillo-Colorado, Arroyo-Salgado, & Ruiz-Garcés, 2015).

Con referencia a todo lo anterior, *M. incilis* es un modelo biológico interesante para conocer la influencia del comportamiento reproductivo en la dispersión y conectividad genética de las poblaciones de peces en el Caribe de Colombia. Así mismo, por tratarse de una especie sobreexplotada que habita ecosistemas marino-costeros con altos niveles de contaminación puede revelar cómo los peces están enfrentando una reducción de los niveles de variabilidad genética y así permitir dilucidar cuáles son las capacidades para superponerse a los cambios del medio ambiente. Estudios previos han demostrado que mientras mayor sea la variación genética de las poblaciones, mejor será la respuesta de una especie a los cambios ambientales (Bickham, Sandhu, Hebert, Chikhi, & Athwal, 2000; Belfiore & Anderson, 2001; Ross, Cooper, & Bidwell, 2002; McMillan, Bagley, Jackson, & Nacci, 2006). Aunque mucho se conoce sobre la ecología y el impacto en el sector pesquero de esta especie en el Caribe de Colombia, no existen estudios genéticos que describan el estado de conservación de las poblaciones en ambientes naturales. Por lo anterior, en este estudio se seleccionaron siete loci microsátélites con el objetivo de determinar los patrones de distribución de la variabilidad genética y el nivel de estructuración genética poblacional de *M. incilis* en áreas de media y alta presión pesquera del Caribe de Colombia. Esto con el fin de proponer nuevos criterios científicos que permitan desarrollar futuros programas de manejo pesquero para este pez.

Materiales y métodos

Muestreo: Las muestras de *M. incilis* fueron recolectadas en seis sectores del Caribe colombiano donde se concentra la mayor actividad pesquera que aprovecha esta especie; tres sistemas lagunares costeros de acceso abierto a la pesca (Ciénaga La Virgen = CVIR,

Ciénaga La Caimanera = CCAI y Bahía de Cispatá = BCIS) y tres del sistema de Parques Nacionales Naturales de Colombia (Santuarios de Fauna y Flora Los Flamencos = SFFF, Ciénaga Grande de Santa Marta = CGSM y El Corchal = SFFC) (Cuadro 1 y Fig. 1). En total 249 muestras fueron recolectadas entre marzo y julio de 2014. La muestra de tejido fue de la aleta caudal y fueron depositados en alcohol al 96 % y congelados a -20 °C para su posterior procesamiento.

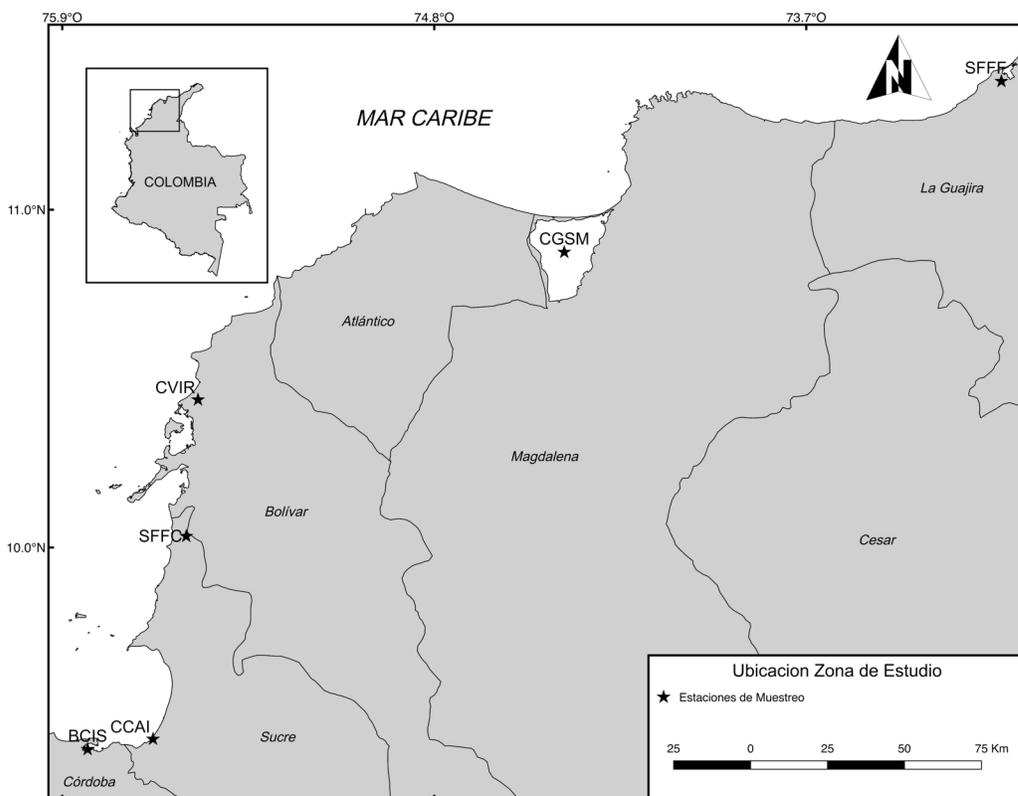


Fig. 1. Sitios de muestreo. Abreviaciones de localidades corresponden a localidades del Cuadro 1.

Fig. 1. Location of the sampling sites. Abbreviations of locations correspond to locations of Table 1.

CUADRO 1

Sitios de muestreo de *Mugil incilis* en el Caribe colombiano

TABLE 1

Sampling sites for *Mugil incilis* in the colombian Caribbean

Abreviación	Localidad	N	Coordenadas	Departamento
SFFF	Santuario de Fauna y Flora Los Flamencos	50	11°22'48.5" N 73°07'23.2" W	La Guajira

CGSM	Ciénaga Grande de Santa Marta	40	10°52'27.3" N 74°24'56.3" W	Magdalena
CVIR	Ciénaga La Virgen	39	10°26'14.8" N 75°29'55.0" W	Bolívar
SFFC	Complejo cenagoso del Santuario de Fauna y Flora El Corchal	40	10° 02'00" N 75°32'00" W	Sucre
CCAI	Ciénaga La Caimanera	40	9°25'58.3" N 75°37'53.8" W	Sucre
BCIS	Bahía de Cispatá	40	9°24'08.7" N 75°49'29.8" W	Córdoba

N= número de muestras recolectadas por sitio.

N= number of samples collected per site.

Extracción ADN y amplificación de microsatélites: El ADN genómico fue extraído utilizando el protocolo de sales de Lopera-Barrero et al. (2008). Siete microsatélites loci previamente descritos para *Mugil cephalus* fueron seleccionados en la genotipificación de las muestras de *M. incilis*: Mcs-15 AM (Miggiano et al., 2005), Mce-2, Mce-3, Mce-7, Mce-11 (Shen et al., 2010), Muce-55 y Muce-80 (Xu, Sun, Shi, & Wang, 2010). Es importante resaltar que la amplificación de estos microsatélites fue exitosa en especies hermanas como *Mugil liza* (Mai et al., 2014) y *Mugil curema* (Pacheco-Almanzar, Ramírez-Saad, Velázquez-Aragón, Serrato, & Ibáñez, 2017). Por este motivo, para aceptar y trabajar con los siete microsatélites citados se realizó una amplificación con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con las siguientes condiciones: volumen final de 10µl que contenía una concentración de buffer de reacción en 1 X, MgCl₂ 2 mM, dNTPs 0.2 mM, 0.2 µM de cada primer y taq-polimerasa 0.22 U (Bioline Meridian Life Science). La reacción de PCR incluyó un primer ciclo de desnaturalización a 95 °C por 5 minutos; luego 30 ciclos a 94 °C por 30 segundos, una temperatura de *annealing* de 62 °C por 30 segundos y una temperatura de extensión a 72 °C por 90 segundos. La reacción finalizó con una temperatura de extensión final a 72 °C por 30 minutos. Los productos de la PCR fueron verificados en geles de agarosa al 2 % y corridos a 80 V por 1.5 horas en una cámara de electroforesis horizontal. Luego fueron analizados a través de electroforesis capilar con el equipo QIAxcel Advanced (QIAGEN). El tamaño de cada locus amplificado se determinó con el programa computacional QIAxcel ScreenGel v1.0, utilizando un marcador de alineamiento entre 15 y 1 000 pb.

Análisis de datos: Se detectó la presencia de alelos nulos y la identificación de posibles errores de genotipificación (amplificación como bandas “stutter” y dominancia de alelos pequeños) utilizando el programa MICRO-CHECKER v2.2.3 (Van Oosterhout, Hutchinson, Wills, & Shipley, 2004). El programa GenAlEx v.6.5 (Peakall & Smouse, 2012) se utilizó para determinar la variabilidad genética intrapoblacional con los estimativos de: número de alelos por locus, frecuencias de alelos y las heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o). Con GENEPOP v4.0 (Rousset, 2008) se calculó el coeficiente de endogamia (F_{IS}) (Weir & Cockerham, 1984), el desequilibrio de ligamiento (LD) y se probaron desvíos de proporciones genotípicas en el equilibrio de Hardy-

Weinberg (E-HW). Se ajustó el nivel de alfa < 0.05 para comparaciones múltiples con el procedimiento de Bonferroni (Rice, 1989).

La reducción reciente en el tamaño de la población se verificó usando BOTTLENECK v1.2.02 (Piry, Luikart, & Cornuet, 1999) con 1 000 repeticiones. Para probar si existían evidencias de un cuello de botella genético, primero se consideraron dos modelos mutacionales para los microsatélites, un modelo de mutación gradual (SMM) y uno de dos fases (TPM) con una proporción de 70 % del modelo SMM y 30 % de varianza. La significancia del resultado fue evaluada con una prueba de Wilcoxon (Wilcoxon, 1945) que evaluó el exceso o déficits de individuos heterocigotos en caso de un cuello de botella reciente. Estas pruebas se realizaron utilizando todos los loci y todas las localidades.

El análisis de la estructura poblacional se analizó con el estadístico F_{ST} de Wright entre pares de localidades. Para esto se realizó un análisis molecular de varianza (AMOVA) con el programa computacional el programa Arlequin v3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). Este análisis permitió evaluar el nivel de diferenciación en diferentes niveles geográficos de organización de las muestras. Los niveles de agrupamiento que se emplearon fueron: un primer análisis asumiendo a todas las localidades como un sólo grupo jerárquico; en el segundo se asumió un grupo para las muestras recolectadas al suroeste de la desembocadura del río Magdalena (CVIR, SFFC, CCAI, BCIS) contrastadas con las del noreste del río (CGSM y SFFF); un tercer análisis asumiendo las muestras recolectadas al noreste del Golfo de Morrosquillo (CVIR, SFFC, CGSM y SFFF) versus las que pertenecen al golfo (CCAI y BCIS). Como complemento a lo anterior, se realizó un análisis de comparación múltiple entre las localidades con el test exacto de diferenciación genotípica (Raymond & Rousset, 1995). Una vez obtenidos los resultados las comparaciones múltiples fueron ajustadas con una prueba de Bonferroni.

Por otro lado, se realizó una prueba de Mantel en IBDWS v3.23 (Jensen, Bohonak, & Kelley, 2005) para examinar la correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica (medida en kilómetros a lo largo del borde de la costa) y evaluar si la población de *M. incilis* se ajusta al modelo de aislamiento por distancia. Para analizar las relaciones genéticas entre las localidades se construyó un dendrograma en Mega v6.0 (Tamura, Stecher, Peterson, Filipski, & Kumar, 2013), utilizando el método de agrupamiento Vecinos más cercano con la matriz de distancia genética ($\delta\mu^2$) de (Goldstein, Ruiz Linares, Cavalli-Sforza, & Feldman, 1995). Esta última se determinó en el programa Arlequin V3.5 (Excoffier & Lischer, 2010).

Se evaluó la presencia de grupos genéticos diferentes utilizando el método de agrupamiento bayesiano implementado en STRUCTURE v2.3.3 (Hubisz, Falush, Stephens, & Pritchard, 2009). Para estimar el número de grupos de poblaciones genéticas (K) dentro del conjunto completo de datos, seis simulaciones independientes para $K = 1-6$ se realizaron con un burn-in de 200 000, 800 000 iteraciones y diez réplicas. El análisis se realizó utilizando un modelo de mezcla (*Admixture Model*) de estructura de poblacional, y se correlacionó la frecuencia de alelos entre las poblaciones. Se estimó el número más probable de grupos de población mediante el estadístico de Evanno, Regnaut y Goudet (2005) utilizando la aplicación en línea STRUCTURE HARVESTER (Earl & VonHoldt, 2012).

Se aplicó el análisis discriminante exploratorio de componentes principales (DAPC), utilizando el paquete Adegenet (Jombart, 2008; Jombart, Devillard, & Balloux, 2010), el cual cuenta con la función DAPC en el software R (R Core Team, 2016). Este análisis se realizó sin información previa sobre las poblaciones individuales. El número de grupos se evaluaron mediante la función `find.clusters`, que corre sucesivos promedios del K con el

aumento de número de agrupaciones (K). Para seleccionar el número óptimo de las agrupaciones, se aplicó el criterio de información bayesiano (BIC) para evaluar el modelo con mayor soporte (Jombart, 2008).

Se estimó el flujo de genes contemporáneo (en las últimas generaciones) entre las poblaciones de *M. incilis* muestreadas en diferentes puntos del Caribe de Colombia, utilizando el método bayesiano implementado en BAYESASS v3 (Wilson & Rannala, 2003). Inicialmente ajustamos los valores de delta para las frecuencias alélicas, las tasas de migración y los coeficientes de endogamia para asegurar que las tasas de aceptación de los cambios en estos parámetros estuvieran entre 40 y 60 % (Wilson & Rannala, 2003). Realizamos 10 ejecuciones repetidas con 1×10^7 iteraciones MCMC y una fase de burn-in de 10^6 iteraciones. Cada ejecución inició con una semilla de generador de números aleatorios diferente para verificar la convergencia según la concordancia entre las ejecuciones en las estimaciones de los parámetros medios posteriores. La convergencia del modelo se evaluó mediante la comparación de las densidades de probabilidad posterior de los coeficientes de endogamia y las frecuencias de los alelos en 10 series repetidas (Faubet, Waples, & Gaggiotti, 2007). La medida de la de varianza bayesiana se utilizó para determinar la estimación que mostraba el mejor ajuste del modelo (Spiegelhalter, Best, Carlin, & van der Linde, 2002) de cada una de las réplicas de cadenas de MCMC utilizando las recomendación y script de R de Meirmans (2014). Para esta ejecución de mejor ajuste se volvió a ejecutar el análisis utilizando la semilla de la ejecución que mejor se ajusta, pero aumentamos la duración de la ejecución a 5×10^7 iteraciones. Los resultados presentados corresponden a la ejecución final.

Resultados

Diversidad genética: Un total de 94 alelos con promedio de 11.6 alelos por locus en los siete loci microsatélites examinados, los cuales presentaron polimorfismo en cada locus. El promedio de alelos por locus en cada localidad no tuvo mucha variación (Cuadro 2). Los alelos más frecuentes en el locus Mcs-15 AM fueron el alelo 266 para las localidades Santuario de Fauna y Flora Los Flamencos (SFFF), Santuario de Fauna y Flora Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM), Ciénaga La Virgen (CVIR) y Santuario de Fauna y Flora El Corchal (SFFC) y el alelo 214 en el locus Muce-80 para las localidades de SFFF, CGSM, SFFC y Ciénaga La Caimanera (CCAI). Se encontraron 23 alelos privados, seis de ellos pertenecen a SFFC, los demás alelos están distribuidos en cada una de las localidades, siendo la CGSM el sitio con menor número de alelos privados (un alelo).

Todas las localidades mostraron desviación en el equilibrio de Hardy-Weinberg, con una probabilidad significativa en cada localidad ($P < 0.001$) (Cuadro 2). Todos los loci microsatélites mostraron evidencia de alelos nulos y alelos “stutter” pero no de pérdida alélica; lo que sugiere que puede existir un exceso de genotipos homocigotos. Los valores promedio de H_0 mostraron una baja variabilidad genética en todas las localidades, con datos que oscilaron entre 0.108 para la localidad de CCAI y 0.402 en SFFF. Con respecto a la heterocigosidad esperada, los valores oscilaron entre 0.772 en CVIR y 0.868 en Bahía de Cispatá (BCIS). La localidad más crítica en términos de variabilidad genética fue CCAI debido a los valores de H_0 (0.108) y F_{IS} (0.873).

Se determinaron ocho asociaciones no aleatorias (desequilibrio de ligamiento) en las 123 comparaciones realizadas que involucraron pares diferentes de loci para cada caso, por lo que se asumió la independencia de los datos para la realización de cada uno de los análisis. La prueba de rangos de Wilcoxon mostró dos tallos para excesos ($P < 0.05$) o deficiencia de individuos heterocigotos ($P < 0.001$), siendo significativo en cuatro de las localidades estudiadas bajo el modelo de mutación IAM y demostrando que han pasado por un reciente cuello de botella debido a una disminución en el tamaño de la población. Bajo el modelo TPM solamente BCIS ha pasado por cuello de botella y según el modelo SMM en tres localidades se evidenció cuello de botella en un pasado reciente.

CUADRO 2

Resumen estadístico de la variabilidad genética de *Mugil incilis* en seis localidades a lo largo del Caribe colombiano

TABLE 2

Statistical summary of the genetic variability of *Mugil incilis* in six locations throughout the Colombian Caribbean

Locus	Mcs15A	Mce2	Mce7	Mce11	Mce3	Muce55	Muce80	Promedio
M								
SFFF								
N	50	50	50	50	50	50	49	50
Na	14	21	12	5	13	7	11	12
RA	22.67	22.1	21.19	5.52	18.24	10.33	19.22	17.04
Ho	0.58	0.22	0.52	0.00	0.54	0.3	0.653	0.402
He	0.907	0.942	0.897	0.663	0.814	0.685	0.854	0.823
H-WE	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fis	0.362	0.768	0.422	1	0.3385	0.564	0.236	0.528
CGSM								
N	40	40	40	40	40	40	40	40
Na	14	17	13	5	1	9	11	12
RA	20.41	20.77	16.45	5.54	16.21	8.25	19.87	15.36
Ho	0.5	0.3	0.55	0.00	0.325	0.125	0.55	0.33
He	0.901	0.921	0.814	0.546	0.863	0.625	0.858	0.790
H-WE	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fis	0.448	0.676	0.327	1	0.626	0.801	0.361	0.606
CVIR								
N	39	39	39	39	39	39	39	39
Na	14	20	11	5	10	6	17	12
RA	19.59	20.97	15.05	5.14	14.79	8.63	22.5	15.24
Ho	0.538	0.231	0.333	0.00	0.41	0.103	0.692	0.330
He	0.891	0.927	0.802	0.393	0.737	0.743	0.909	0.772
H-WE	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fis	0.398	0.753	0.58	1	0.446	0.863	0.240	0.613
SFFC								
N	40	40	40	40	40	40	40	40
Na	13	18	13	5	11	6	12	11

RA	17.61	19.68	18.41	5.44	17.59	8.84	17.81	15.05
Ho	0.55	0.15	0.45	0.025	0.5	0.1	0.6	0.339
He	0.859	0.910	0.863	0.438	0.828	0.753	0.859	0.787
H-WE	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fis	0.3628	0.836	0.481	0.943	0.399	0.868	0.303	0.600
CCAI								
N	40	37	40	39	40	37	26	40
Na	13	13	10	9	6	7	14	10
RA	13.96	15.5	12.95	9.93	6.76	8.06	15.02	11.74
Ho	0.125	0.108	0.125	0.128	0.025	0.054	0.192	0.108
He	0.851	0.843	0.847	0.808	0.677	0.75	0.931	0.815
H-WE	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fis	0.8547	0.8732	0.854	0.843	0.963	0.928	0.796	0.873
BCIS								
N	40	40	40	40	40	40	39	40
Na	14	20	14	11	10	9	14	13
RA	20.31	19.9	19.06	12.03	14.42	10.77	20.12	16.66
Ho	0.375	0.25	0.425	0.125	0.35	0.1	0.462	0.298
He	0.914	0.933	0.87	0.816	0.819	0.822	0.902	0.868
H-WE	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fis	0.592	0.734	0.514	0.848	0.575	0.879	0.491	0.593

Número de muestras amplificadas (N); número de alelos (Na); Riqueza Alelica (RA); heterocigosidad esperada (He); heterocigosidad observada (Ho); desviación del equilibrio Hardy-Weinberg (H-WE) y coeficiente de endogamia (Fis). El nivel de significancia fue de $P < 0.001$.

Number of amplified samples (N); number of alleles (Na); allelic richness (AR); expected heterozygosity (He); observed heterozygosity (Ho) deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium (H-WE) and inbreeding coefficient (Fis). The level of significance was $P < 0.001$.

Divergencia genética: Los resultados de la AMOVA mostraron diferenciación genética entre todas las localidades ($F_{ST(5, 248)} = 0.106$, $P = 0.001$), siendo el mayor nivel de diferenciación genética cuando las localidades del Golfo de Morrosquillo (CCAI y BCIS) se contrastaron con las demás (SFFF, CGSM, CVIR y SFFC; Cuadro 3). El análisis de comparación múltiple permitió observar que los valores de F_{ST} entre las seis localidades variaron de 0.061 entre CGSM y SFFC hasta 0.140 entre CVIR y CCAI (Cuadro 4), presentando una moderada diferenciación genética de acuerdo con la escala propuesta por Wright (Hartl & Clark, 1997).

El análisis de la prueba de Mantel no mostró evidencia significativa de una relación directa entre la distancia genética (F_{st} pareadas) y la distancia geográfica (Km) entre las seis localidades muestreadas ($Z = 932.4847$, $r = 0.0101$, $P = 0.2920$).

CUADRO 3

Análisis de varianza molecular (AMOVA) para evaluar tres tipos de agrupamientos poblacionales en *Mugil incilis* del Caribe colombiano

TABLE 3

Analysis of molecular variance (AMOVA) to evaluate three types of population groupings in *Mugil incilis* of the colombian Caribbean

Variación	Agrupamiento		
	1. Todas las localidades	2. Noreste del río Magdalena vs. Suroeste	3. Golfo de Morrosquillo vs. Noreste del golfo
Entre grupos (F_{CT})	N/A	0.004 P= 0.3	0.018 P= 0.06
Entre poblaciones dentro de grupos (F_{SC})	N/A	0.104 P= 0.001	0.097 P= 0.001
Dentro de poblaciones (F_{ST})	0.106 P= 0.001	0.004 P= 0.001	0.018 P= 0.001

Ver sección métodos los agrupamientos. See methods for grouping.

CUADRO 4

Estimaciones pareadas de F_{st} (Weir & Cockerham, 1984) (debajo de la diagonal) y valores de P del análisis de comparación múltiple entre las localidades basado en el test diferenciación genotípica de Raymond y Roussett (1995)

TABLE 4

Paired estimates of F_{st} (Weir & Cockerham, 1984) (below the diagonal) and p values of the multiple comparison analysis among the localities based on the genotypic differentiation test of Raymond and Roussett (1995)

Localidades	SFFF	CGSM	CVIR	SFFC	CCAI	BCIS
SFFF	0	0.049	0.078	0.001	0.000	0.002
CGSM	0.084*	0	0.034	0.076	0.001	0.029
CVIR	0.129*	0.159*	0	0.006	0.000	0.008
SFFC	0.094*	0.061*	0.126*	0	0.000	0.000
CCAI	0.108*	0.115*	0.140*	0.123*	0	0.014
BCIS	0.082*	0.097*	0.107*	0.115*	0.063*	0

(*) indica comparaciones significantes ($P < 0.05$).

(*) indicates significant comparisons ($P < 0.05$).

El dendrograma construido a partir de la matriz de distancia genética ($\delta\mu^2$) permitió distinguir dos subpoblaciones para *M. incilis* en el Caribe de Colombia. Una gran población conformada por la relación genética entre las localidades del SFFF, CGSM, CVIR y SFFC; una segunda por BCIS y CCAI (Fig. 2A). Esta agrupación fue similar a lo observado en el procedimiento realizado con STRUCTURE (Evanno et al., 2005), ya que se identificaron dos grupos poblacionales ($K = 2$, Fig. 2B). El primero está conformado por los individuos de las localidades de SFFF, CGSM, CVIR y SFFC (rojo) y un segundo por CCAI y BCIS (verde), siendo esta última localidad con la mayor mezcla de genotipos del primer grupo (Fig. 2C).

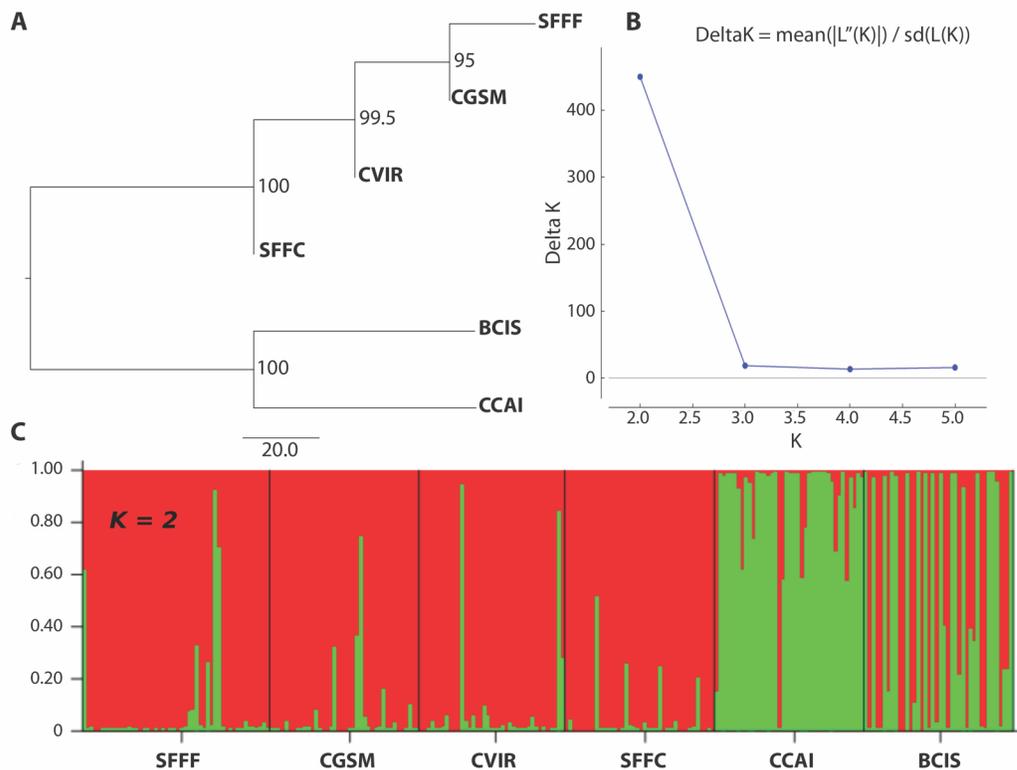


Fig. 2. Subestructuración poblacional para muestras de *Mugil incilis* recolectadas en el Caribe de Colombia. **(A)** dendrograma construido con el método vecino más cercano a partir de la distancia genética ($\delta\mu^2$) de Goldstein et al. (1995). Valores en nodos corresponden a valores de apoyo Bootstrap. **(B)** Número de poblaciones más probable sugerido por Evanno et al. (2005). **(C)** gráfico de barras utilizando la Q-matrix que describe la estructura genética de la población según la evaluación en STRUCTURE.

Fig. 2. Population sub-structure for samples of *Mugil incilis* collected in the Caribbean of Colombia. **(A)** dendrogram constructed with the Neighbor-Joining method from the genetic distance ($\delta\mu^2$) Goldstein *et al.* (1995). Values in nodes correspond to support values Bootstrap. **(B)** Number of populations most likely suggested by Evanno et al. (2005). **(C)** bar graph using the Q-matrix that describes the genetic structure of the population according to STRUCTURE.

El análisis de DAPC fue inicialmente realizado sin algún grupo asignado *a priori*. Para obtener el número óptimo de cluster con la función find.cluster, 75 ejes representaron el 80 % del total de varianza retenida. El programa cubrió un ámbito de posibles grupos de 1-25. El valor bajo de BIC (96.6117) correspondió a $K = 6$. Para el análisis de DAPC, 75 ejes de PCA y cinco funciones discriminantes fueron retenidos por contener el 95 % de la varianza. Se formaron tres agrupaciones, una gran agrupación conformada por los sitios SFFF, CGSM, CVIR y SFFC, mientras que CCAI y BCIS se diferenciaron como dos poblaciones independientes (Fig. 3).

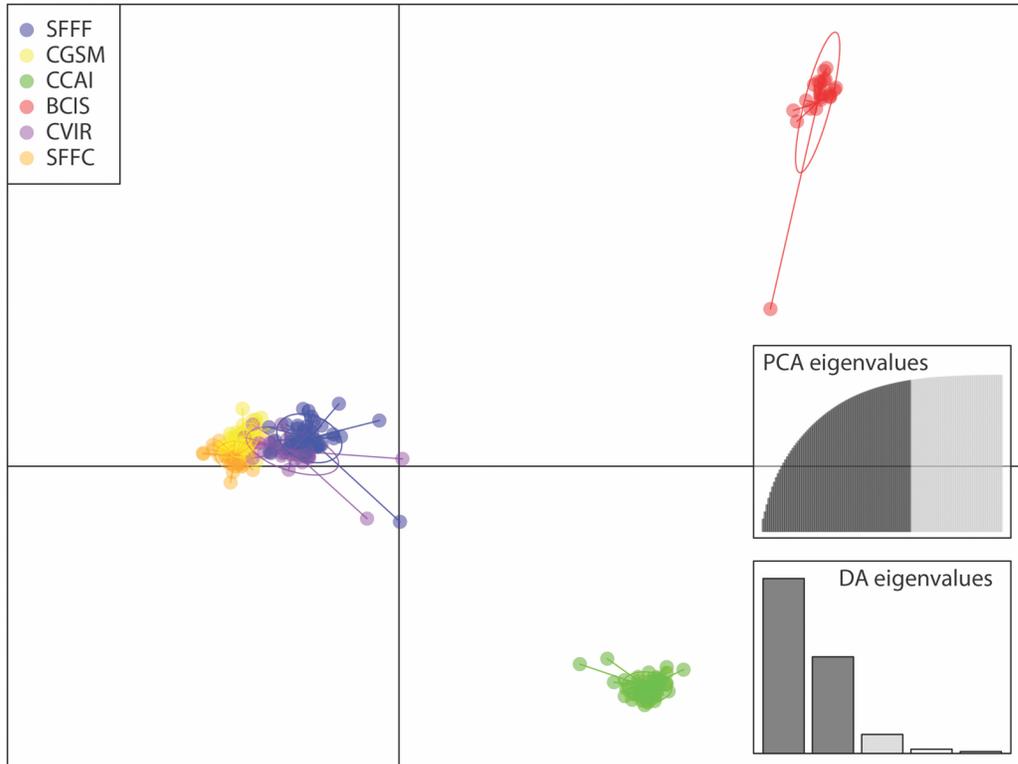


Fig. 3. Scatterplot de Análisis de componentes principales obtenido a través de ADEGENET que muestra los tres grupos de *Mugil incilis* en el Caribe Colombiano. Las barras representan la proporción de diversidad genética descrita por el análisis de componente principal.

Fig. 3. Scatterplot of a Discriminant Analysis of Principal Component (DAPC) obtained with ADEGENET showing genetic distinctions among three subset *Mugil incilis* of the colombian Caribbean. The barplots in the inserts show the proportion of genetic diversity described by each principal component.

Flujo genético: Las estimaciones bayesianas de flujo genético contemporáneo entre las seis poblaciones (expresado como proporciones de la población que migra a otras regiones en las últimas generaciones) indicó que hay una fracción de individuos de la localidad BSCI que son migrantes de la población CCAI (0.136) (Cuadro 5). Para el caso de las localidades del norte se observó que las tasas de flujo de genes fueron muy bajas (< 0.01).

CUADRO 5

Tasas recientes de migración bidireccional (N_{em}) entre los grupos geográficos de *Mugil incilis* utilizando información de loci de microsatélites

TABLE 5

Recent rates of bidirectional migration (N_{em}) between the geographical groups of *Mugil incilis* using information from microsatellite loci

	SFFF	CGSM	CVIR	SFFC	CCAI	BCIS
SFFF	0.960	0.007	0.010	0.006	0.006	0.011

CGSM	0.009	0.948	0.014	0.008	0.008	0.013
CVIR	0.009	0.013	0.943	0.019	0.008	0.008
SFFC	0.015	0.013	0.008	0.949	0.007	0.008
CCAI	0.008	0.015	0.008	0.008	0.945	0.017
BCIS	0.018	0.008	0.008	0.008	<i>0.136</i>	0.822

Poblaciones de individuos que migran (filas) y población de origen de los migrantes (columnas). Los valores a lo largo de la diagonal son las proporciones de individuos derivados de las poblaciones originales en cada generación. Las tasas de migración ≥ 0.10 están en cursiva. Las desviaciones estándar para todas las distribuciones fueron < 0.05 .

Populations of individuals that migrates (rows) and population origin of migrants (columns). The values along the diagonal are the proportions of individuals derived from the original populations in each generation. Migration rates ≥ 0.10 are in italics. The standard deviations for all distributions were < 0.05 .

Discusión

Se presenta el primer estudio genético de *Mugil incilis* en el Caribe colombiano, empleando partidores no específicos para la especie. La amplificación cruzada usando partidores diseñados para *M. cephalus* permitió tener información relevante sobre la variabilidad y estructura genética de esta especie. Todos los loci fueron polimórficos y los resultados obtenidos son comparables con estudios realizados para otras especies de mugílidos (Miggiano et al., 2005; Pacheco-Almanzar et al., 2017; Shen et al., 2010; Whitfield, Panfili, & Durand, 2012; Xu et al., 2010). La riqueza alélica observada en *M. incilis* difirió de la documentada para poblaciones de *M. cephalus* y *M. liza* (Mai et al., 2014; Miggiano et al., 2005; Whitfield et al., 2012). Por ejemplo, algunos microsatélites presentaron menos alelos (Mcs15AM, Mce3 y Mce7) que otros (Mce2 y Mce11), en comparación con las poblaciones de *M. cephalus* (Miggiano et al., 2005; Shen et al., 2010). Sin embargo los bajos valores de alelos se han reportado en especies hermanas como *Mugil liza* (Mai et al., 2014) y *Mugil curema* (Pacheco-Almanzar et al., 2017) que han utilizado los microsatélites diseñados para *M. cephalus*.

Con respecto a los valores promedios de heterocigosidad observada y esperada para *M. incilis*, se obtuvieron valores menores a los documentados para poblaciones de *M. cephalus* ($H_0 = 0.2593-0.8966$, $H_e = 0.3047-0.8454$) (Miggiano et al., 2005; Shen et al., 2010; Xu et al., 2010). Por lo anterior, fue evidente un déficit de heterocigotos asociado a la alta endogamia poblacional ($F_{is} > 0.5$) debido probablemente a la reducción drástica de los tamaños efectivos poblacionales ocasionada por la sobrepesca y la contaminación ambiental. Los análisis de cuello de botella indicaron que todas las localidades experimentaron este fenómeno en el pasado reciente y coincide con la disminución de tallas y de las capturas desembarcadas que experimentan los peces de *M. incilis* en la mayoría de las lagunas costeras del Caribe de Colombia (Blanco-Racedo, 1983; Sánchez Ramírez et al., 1998; Narváez-Barandica et al., 2008; INVEMAR, 2014; Martínez et al., 2014). Así mismo, la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg en todos los loci puede también explicar el déficit de heterocigotos por la acción de algún tipo de selección y de la deriva

genética (Hartl & Clark, 1997). Por otro lado, se detectó la presencia de alelos nulos en todos los loci y esto pudo afectar las estimaciones de diversidad genética debido a los comunes errores de amplificación/genotipificación de los loci microsatélites y no por alguna señal de diferenciación genética poblacional (Hoffman & Amos, 2005; Landínez-García, Ospina-Guerrero, Rodríguez-Castro, Arango-Isaza, & Márquez-Fernández, 2009; Orozco-Berdugo & Narváez-Barandica, 2014; Meirmans, 2015). A pesar de lo anterior, siempre será difícil probar las reales causas que afectan la diversidad genética de las poblaciones; sin embargo, este estudio genera una primera aproximación del estado genético de las poblaciones muestreadas de *M. incilis* en el Caribe de Colombia.

Para *M. incilis* se determinó una diferenciación genética poblacional entre todas las localidades estudiadas. La mayor diferenciación genética la presentaron BCIS y CCAI con el resto de las localidades. Es así que esta diferenciación genética coincidió en el análisis de dendrograma y en el bayesiano de STRUCTURE, donde los peces muestreados en SFFF, CGSM, CVIR y SFFC conforman la subpoblación 1; mientras que los de CCAI y BCIS conforman la subpoblación 2. Con respecto a esta última subpoblación, las dos localidades que la conforman presentan la mayor relación genética revelado a partir del análisis de las tasas de migración (Cuadro 5). Sin embargo, fue evidente que algunos genotipos de las localidades de la subpoblación 1 se mezclaran con los de la subpoblación 2, principalmente en la localidad BCIS (Fig. 2A, Fig. 2C). A diferencia de lo anterior, el análisis de DAPC determinó que los peces muestreados en SFFF, CGSM, CVIR y SFFC también conforman la subpoblación 1; pero esta vez aparece BCIS conformando una subpoblación 2 y CCAI una subpoblación 3. La principal explicación se debe a que los peces recolectados en BCIS tienen similar proporción de genotipos de la subpoblación 1 y 3 (Fig. 2C). Por este motivo, y con principio conservacionista se decide por optar la sub-estructuración genética de tres subpoblaciones para *M. incilis* en el Caribe de Colombia. De igual manera es importante resaltar que las actividades pesqueras y las condiciones ambientales son diferentes en estas lagunas (INVEMAR, 2014). Por otro lado, el análisis de autocorrelación espacial no evidenció la existencia del modelo poblacional de aislamiento por distancia en la población de *M. incilis* asociada al Caribe de Colombia.

Con respecto a otros estudios, la subestructuración genética de *M. incilis* propuesta aquí es similar a lo registrado en América para otras especies del mismo género (Mai et al., 2014; Miggiano et al., 2005; Siccha-Ramirez, Menezes, Nirchio, Foresti, & Oliveira, 2014; Whitfield et al., 2012). Es así como Mai et al. (2014) documentaron para *M. liza* la existencia de dos poblaciones diferenciadas genéticamente a lo largo de las costas de Brasil y Argentina, los cuales son separados por la dinámica oceanográfica y ambiental de las corrientes de Brasil y Malvinas que confluyen en el área. Otro ejemplo lo presentaron Pacheco-Almanzar et al. (2017), que describieron tres poblaciones entre el Golfo de México y una localidad ubicada en el Noroeste del Atlántico, las cuales son definidas por la variación espacial de las condiciones oceanográficas del Golfo, diferentes tiempos de desoves y diferencias en las condiciones ecológicas y geomorfológicas de las lagunas.

Lo que concierne a *M. incilis* en el Caribe de Colombia, en las localidades estudiadas en esta primera aproximación genética el patrón de diferenciación genética observado probablemente está influido por el comportamiento de las corrientes que predominan durante la época de migración reproductiva desde las lagunas hacia el mar (septiembre-diciembre) (Bustos-Montes et al., 2012; Mármol, Viloría, & Blanco, 2010). Estas corrientes ocasionan un punto de divergencia entre ambas poblaciones puesto que una porción de la corriente Panamá-Colombia, denominada contracorriente del Darién, viaja adyacente a la

costa en dirección noreste y puede estar limitando el flujo genético desde la subpoblación 1 (noreste) hacia la 2 (interior del Golfo de Morrosquillo) (Centurioni & Niiler, 2003; Sheng & Tang, 2003; Gyory, Mariano, & Ryan, 2008; Miloslavich et al., 2010). Sin embargo, durante los máximos valores de los vientos Alisios del NE (enero-marzo), la contracorriente del Darién se debilita en las capas de aguas superficiales y permite una mayor influencia de la corriente Caribe para arrastrar larvas de la subpoblación 1 hacia el sur del Caribe de Colombia (Centurioni & Niiler, 2003; Gyory et al., 2008). Esto podría explicar por qué los peces de SFFF, CGSM, CVIR y SFFC no se diferencian genéticamente en el análisis bayesiano; y por qué una considerable proporción de genotipos de la subpoblación 1 están presentes en BCIS y en una mínima fracción en CCAI (Fig. 2C). Por otro lado, la diferenciación genética de los peces de CCAI con el resto de localidades se debe a que las condiciones locales de vientos, olas y corrientes dentro del Golfo de Morrosquillo (Ricaurte Villota, Rangel Buitrago, Galeano, & Coca Domínguez, 2012) probablemente influye en el autoreclutamiento biológico local y también limite la dispersión de las larvas hacia la subpoblación 1.

En conclusión, esta investigación representa el primer estudio genético poblacional de *M. incilis* en el Caribe colombiano. Los resultados de este estudio mostraron indicadores de variabilidad genética bajos en comparación con las especies del mismo género y especialmente en las localidades de los tres santuarios de conservación para *M. incilis*. Esta condición demuestra que las áreas no son suficientes para la conservación de *M. incilis*, puesto que no abarcan todo el espacio geográfico que necesita la especie para cumplir su ciclo de vida (Blanco-Racedo, 1983; Sánchez Ramírez et al., 1998). Se sabe que *M. incilis* es un recurso muy vulnerable a la actividad pesquera, principalmente cuando los peces salen desde las áreas de alimentación y desarrollo hacia el mar para realizar sus migraciones reproductivas (Narváez-Barandica et al., 2008).

La estructura genética de *M. incilis* presentó tres subpoblaciones en el Caribe de Colombia. La primera tiene mayor ocupación en un ámbito geográfico que va desde el departamento de La Guajira (SFFF) hasta el de Sucre (SFFC). Las otras dos están ubicadas en las lagunas costeras dentro del Golfo de Morrosquillo; una segunda subpoblación en BCIS y una tercera en CCAI. Esto se pudo explicar por el comportamiento migratorio del pez y la dinámica oceanográfica de la corriente Caribe, de la contracorriente del Darién y a las condiciones oceanográficas del interior del Golfo de Morrosquillo. Se recomienda en futuros estudios generar iniciadores específicos para la especie que permitan comprobar los resultados obtenidos en este y de igual manera ampliar el número de sitios de muestreo.

La variabilidad genética baja y la subdivisión poblacional de *M. incilis* debe motivar a las autoridades ambientales y a las comunidades de pescadores adelantar procesos para su conservación y manejo pesquero en todo el Caribe de Colombia. Se deben hacer esfuerzos interinstitucionales para evitar la pérdida de la variabilidad genética que experimenta la especie debido a la sobreexplotación pesquera y a la mala calidad ambiental de las aguas donde habita. Para iniciar con estos procesos se proponen las siguientes recomendaciones: *i*). Establecer una veda temporal que coincida con el periodo de migración reproductiva de la especie. *ii*). Acoger tres unidades de manejo (UM) con el objetivo de establecer las estrategias de manejo y conservación para *M. incilis* de acuerdo a la historia de vida y a la forma como se aprovecha con la pesca en cada unidad (Cabral, Mamauag, & Aliño, 2015; Moritz, 1994; Roberts et al., 2003). La primera UM está ubicada en el área que cubre la subpoblación 1 (SFFF, CGSM, CVIR y SFFC); la segunda está en BCIS y la tercera está en CCAI, donde se deben desarrollar estudios biológicos-pesqueros que permitan establecer

puntos de referencias para futuros programas de manejo. *iii*). Finalmente, generar espacios de concertación entre las comunidades de pescadores, las instituciones administradoras de los recursos pesqueros y naturales para acordar medidas de manejo pesquero más acertadas para el aprovechamiento sostenible de *M. incilis*.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las comunidades de pescadores de las localidades mencionadas en este estudio por colaborar en la recolecta de muestras. También a los directivos de los santuarios de fauna y flora de Los Flamencos, Ciénaga Grande de Santa Marta y El Corchal por apoyar los trabajos de campo. A Luz Angarita, Rebeca Franke, Héctor Martínez, Elizabeth Hernández y Ángel Villa por su apoyo institucional desde la Territorial Caribe de Parques Nacionales Naturales de Colombia. A Eider Muñoz y Gilberto Orozco por el apoyo técnico en laboratorio y en el análisis de los datos. Esta investigación fue financiada por la Unión Europea a través del proyecto de investigación titulado “Estudio piloto del efecto de desborde en áreas marinas protegidas del Caribe colombiano”, el cual fue desarrollado en el marco del convenio número 025-2012 celebrado entre la fundación Fondo de Patrimonio Natural y la Universidad del Magdalena. Julián F. Quintero-Galvis agradece a CONICYT/Doctorado Nacional/2016-21160901. Los autores agradecemos a los revisores anónimos por los comentarios y aportes al manuscrito final.

Referencias

Alonso, D., Pineda, P., Olivero, J., González, H., & Campos, N. (2000). Mercury levels in muscle of two fish species and sediments from the Cartagena Bay and the Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. *Environmental Pollution*, *109*, 157-163.

Belfiore, N. M., & Anderson, S. L. (2001). Effects of contaminants on genetic patterns in aquatic organisms: a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *489*(2-3), 97-122. DOI: 10.1016/S1383-5742(01)00065-5

Bickham, J. W., Sandhu, S., Hebert, P. D. N., Chikhi, L., & Athwal, R. (2000). Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *463*(1), 33-51. DOI: 10.1016/S1383-5742(00)00004-1

Blanco-Racedo, J. A. (1983). The condition factor of *Mugil incilis* Hancock (Pisces: Mugilidae) and its seasonal changes in the Ciénaga Grande de Santa Marta (Colombia). *Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta Betín*, *13*, 133-142.

Burgos-Núñez, S., Navarro-Frómata, A., Marrugo-Negrete, J., Enamorado-Montes, G., & Urango-Cárdenas, I. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in the Cispatá Bay, Colombia: A marine tropical ecosystem. *Marine Pollution Bulletin*, *120*, 379-386.

Bustos-Montes, D., Santafé-Muñoz, A., Grijalba-Bendeck, M., Jáuregui, A., Franco-

Herrera, A., & Sanjuan-Muñoz, A. (2012). Bioecología de la lisa (*Mugil incilis* Hancock) en la bahía de Cispatá, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 41(2), 447-461.

Cabral, R. B., Mamauag, S. S., & Aliño, P. M. (2015). Designing a marine protected areas network in a data-limited situation. *Marine Policy*, 59, 64-76. DOI: 10.1016/j.marpol.2015.04.013

Centurioni, L. R., & Niiler, P. (2003). On the surface currents of the Caribbean Sea. *Geophysical Research Letters*, 30(6), 1279. DOI: 10.1029/2002GL016231

Cogua, P., Jiménez-Reyes, M. F., & Duque, G. (2013). Relaciones tróficas de cinco especies de peces de interés comercial en la Bahía de Cartagena, Caribe Colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 42(1), 185-192.

De La Hoz-M., J., Narváez-Barandica, J. C., Manjarrés-Martínez, L., Nieto, L., Rivera, R., Cuello, F., & Álvarez, A. (2013). *Boletín Estadístico Enero - Diciembre de 2013*. Bogota, Colombia: Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP).

Earl, D. A., & VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359-361. DOI: 10.1007/s12686-011-9548-7

Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x

Excoffier, L., & Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x

Faubet, P., Waples, R. S., & Gaggiotti, O. E. (2007). Evaluating the performance of a multilocus Bayesian method for the estimation of migration rates. *Molecular Ecology*, 16, 1149-1166. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.03218.x

Goldstein, D. B., Ruiz Linares, A., Cavalli-Sforza, L. L., & Feldman, M. W. (1995). Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(15), 6723-6727. DOI: 10.1073/PNAS.92.15.6723

Gyory, J., Mariano, A., & Ryan, E. (2008). "The Caribbean Current." Ocean Surface Currents. Retrieved from: <https://oceancurrents.rsmas.miami.edu/caribbean/caribbean.html>

Hartl, D. L., & Clark, G. C. (1997). *Principles of Population Genetics*. Sunderland, USA: Sinauer Associates.

Harrison, I. J. (2002). FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes and American

Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication. In K. E. Carpenter (Ed.), *The living marine resources of the Western Central Atlantic. Volume 2: Bony fishes, Part 1 (Acipenseridae to Grammatidae)* (pp. 1071-1083). Rome, Italy: FAO.

Hoffman, J. I., & Amos, W. (2005). Microsatellite genotyping errors: Detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Molecular Ecology*, *14*(2), 599-612. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2004.02419.x

Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, *9*(5), 1322-1332. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x

INVEMAR. (2014). *Informe del estado de los ambientes marinos y costeros en Colombia: Año 2013* (Número 3). Santa Marta, Colombia: Serie de Publicaciones Periódicas.

INVEMAR. (2017). Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras en el Caribe y Pacífico colombianos (Número 4). Santa Marta, Colombia: Serie de Publicaciones Periódicas.

Jaramillo-Colorado, B. E., Arroyo-Salgado, B., & Ruiz-Garcés, L. C. (2015). Organochlorine pesticides and parasites in *Mugil incilis* collected in Cartagena Bay, Colombia. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*, 17475-17485. DOI: 10.1007/s11356-015-4986-5

Jensen, J. L., Bohonak, A. J., & Kelley, S. T. (2005). Isolation by distance, web service. *BMC Genetics*, *6*(13), 1-6. DOI: 10.1186/1471-2156-6-13

Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, *24*(11), 1403-1405. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn129

Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, *11*(1), 94. DOI: 10.1186/1471-2156-11-94

Landínez-García, R. M., Ospina-Guerrero, S. P., Rodríguez-Castro, D. J., Arango-Isaza, R. E., & Márquez-Fernández, E. J. (2009). Genetic analysis of *Lutjanus synagris* populations in the Colombian Caribbean. *Ciencias Marinas*, *35*(4), 321-331.

Lopera-Barrero, N. M., Povh, J. A., Ribeiro, R. P., Gomes, P. C., Jacometo, C. B., & Silva Lopes, T. da. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria*, *35*(1), 77-86. DOI: 10.4067/S0718-16202008000100008

Mai, A. C. G., Miño, C. I., Marins, L. F. F., Monteiro-Neto, C., Miranda, L., Schwingel, P. R., ... Vieira, J. P. (2014). Microsatellite variation and genetic structuring in *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) populations from Argentina and Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *149*, 80-86. DOI: 10.1016/j.ecss.2014.07.013

Mármol, R. D., Vilorio, M., & Blanco, R. J. (2010). Efectos de la pesca sobre la biología reproductiva de la lisa *Mugil incilis* (Pisces: Mugilidae) en la Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe Colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 39(2), 215-231.

Martínez, V. H., Ante, R. F., Saldaña Pérez, P., Cano Correa, M., Angarita Jiménez, L. E., Llano, C. G., ... Anaya, C. L. (2014). Caracterización del uso y aprovechamiento de recursos hidrobiológicos en áreas protegidas de Parques Nacionales Naturales en el Caribe de Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 43(2), 277-306.

McMillan, A. M., Bagley, M. J., Jackson, S. A., & Nacci, D. E. (2006). Genetic diversity and structure of an estuarine fish (*Fundulus heteroclitus*) indigenous to sites associated with a highly contaminated urban harbor. *Ecotoxicology*, 15(6), 539-548. DOI: 10.1007/s10646-006-0090-4

Meirmans, P. G. (2014). Nonconvergence in Bayesian estimation of migration rates. *Molecular Ecology Resources*, 14(4), 726-733. DOI: 10.1111/1755-0998.12216

Meirmans, P. G. (2015). Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. *Molecular Ecology*, 24, 3223-3231.

Miggiano, E., Lyons, R. E., Li, Y., Dierens, L. M., Crosetti, D., & Sola, L. (2005). Isolation and characterization of microsatellite loci in the striped mullet, *Mugil cephalus*. *Molecular Ecology Notes*, 5(2), 323-326. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.00915.x

Miloslavich, P., Díaz, J. M., Klein, E., Alvarado, J. J., Díaz, C., Gobin, J., ... Ortiz, M. (2010). Marine biodiversity in the Caribbean: regional estimates and distribution patterns. *PloS One*, 5(8), e11916. DOI: 10.1371/journal.pone.0011916

Moritz, C. (1994). Defining "Evolutionarily Significant Units" for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 9(10), 373-375. DOI: 10.1016/0169-5347(94)90057-4

Narváez-Barandica, J. C., Herrera-Pertuz, F. A., & Blanco-Racedo, J. (2008). Efecto de los artes de pesca sobre el tamaño de los peces en una pesquería artesanal del Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 37(2), 163-187.

Orozco-Berdugo, G., & Narváez-Barandica, J. C. (2014). Genetic diversity and population structure of bocachico *Prochilodus magdalenae* (Pisces, Prochilodontidae) in the Magdalena river basin and its tributaries, Colombia. *Genetics and Molecular Biology*, 37(1), 37-45. DOI: 10.1590/S1415-47572014000100008

Osorio, D. (1998). Ecología trófica de *Mugil curema*, *M. incilis* y *M. liza* en la Ciénaga Grande de Santa Marta. *Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta Betín*, 18, 113-126.

Pacheco-Almanzar, E., Ramírez-Saad, H., Velázquez-Aragón, J. A., Serrato, A., & Ibáñez, A. L. (2017). Diversity and genetic structure of white mullet populations in the Gulf of

Mexico analyzed by microsatellite markers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 198, 249-256. DOI: 10.1016/j.ecss.2017.09.015

Plata, J., Campos, N., & Ramírez, G. (1993). Flujo de compuestos organoclorados en las cadenas tróficas de la Ciénaga de Santa Marta. *Caldasia*, 17(2), 199-204.

Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460

Pérez-Ruzafa, Á., González-Wangüemert, M., Lenfant, P., Marcos, C., & García-Charton, J. A. (2006). Effects of fishing protection on the genetic structure of fish populations. *Biological Conservation*, 129(2), 244-255. DOI: 10.1016/j.biocon.2005.10.040

Piry, S., Luikart, G., & Cornuet, J. (1999). Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90(4), 502-503. DOI: 10.1093/jhered/90.4.502

R Core Team. (2016). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Raymond, M., & Rousset, F. (1995). An Exact Test for Population Differentiation. *Evolution*, 49(6), 1280-1283. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1995.tb04456.x

Rey, I., & Acero, P. (2002). *Biodiversidad íctica del Caribe colombiano*. Santa Marta, Colombia: Universidad Bogotá Jorge Tadeo Lozano.

Ricaurte Villota, C., Rangel Buitrago, N., Galeano, E., & Coca Domínguez, O. (2012). *Estudios para la prevención y mitigación de la erosión costera. Convenio MADS - INVEMAR (Informe Técnico Final para Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible)*. Santa Marta, Colombia.

Rice, W. R. (1989). Analyzing Tables of Statistical Tests. *Evolution*, 43(1), 223-225. DOI: 10.2307/2409177

Roberts, C. M., Andelman, S., Branch, G., Bustamante, R. H., Carlos Castilla, J., Dugan, J., ... Warner, R. R. (2003). Ecological criteria for evaluating candidate sites for marine reserves. *Ecological Applications*, 13, 199-214. DOI: 10.1890/1051-0761(2003)013[0199:ECFECS]2.0.CO;2

Ross, K., Cooper, N., & Bidwell, J. R. (2002). Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: a comparison between populations from contaminated and reference sites. *Marine Pollution Bulletin*, 44(7), 671-679. DOI: 10.1016/S0025-326X(01)00333-2

Rousset, F. (2008). genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1), 103-6. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x

Sánchez Ramírez, C., Rueda, M., & Santos-Martínez, A. (1998). Dinámica poblacional y pesquería de la Lisa, *Mugil incilis* en la Ciénaga Grande de Santa Marta Caribe colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 22(85), 507-517.

Shen, K. N., Chen, C. Y., Tzeng, W. N., Chen, J. D., Knibb, W., & Durand, J. D. (2010). Development and characterization of 13 GT/CA microsatellite loci in cosmopolitan flathead mullet *Mugil cephalus*. *Molecular Ecology Resources*, 10(6), 1098e1105.

Sheng, J., & Tang, L. (2003). A Numerical Study of Circulation in the Western Caribbean Sea. *Journal of Physical Oceanography*, 33(10), 2049-2069. DOI: 10.1175/1520-0485(2003)033<2049:ANSOCI>2.0.CO;2

Siccha-Ramirez, R., Menezes, N. A., Nirchio, M., Foresti, F., & Oliveira, C. (2014). Molecular identification of mullet species of the Atlantic South Caribbean and South America and the phylogeographic analysis of *Mugil liza*. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 22(1), 86-96. DOI: 10.1080/10641262.2013.833583

Spiegelhalter, D. J., Best, N. G., Carlin, B. P., & van der Linde, A. (2002). Bayesian Measures of Model Complexity and Fit. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Statistical Methodology)*, 64(4), 583-639. DOI: 10.1111/1467-9868.00353

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535-538. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x

Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38(6), 1358. DOI: 10.2307/2408641

Whitfield, A. K., Panfili, J., & Durand, J. D. (2012). A global review of the cosmopolitan flathead mullet *Mugil cephalus* Linnaeus 1758 (Teleostei: Mugilidae), with emphasis on the biology, genetics, ecology and fisheries aspects of this apparent species complex. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 22(3), 641-681. DOI: 10.1007/s11160-012-9263-9

Wilcoxon, F. (1945). Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6), 80. DOI: 10.2307/3001968

Wilson, G. A., & Rannala, B. (2003). Bayesian Inference of Recent Migration Rates Using Multilocus Genotypes. *Genetics*, 163(8), 1177-1191. DOI: 10.1073/pnas.081068098

Xu, T., Sun, D., Shi, G., & Wang, R. X. (2010). Development and characterization of polymorphic microsatellite markers in the gray mullet (*Mugil cephalus*). *Genetics and Molecular Research : GMR*, 9(3), 1791-1795. DOI: 10.4238/vol9-3gmr909