

Genetic analysis of *Lutjanus synagris* populations in the Colombian Caribbean

Análisis genético de *Lutjanus synagris* en poblaciones del Caribe Colombiano

RM Landínez-García, SP Ospina-Guerrero, DJ Rodríguez-Castro, R Arango, E Márquez*

Grupo de Biotecnología Animal, Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Universidad Nacional de Colombia, Calle 59A No 63–20, Medellín, Colombia. * E-mail: ejmarque@unal.edu.co

Abstract

Species of the family Lutjanidae constitute an important fishery resource in tropical marine areas worldwide and are intensely exploited because of their excellent commercial value and quality. In Colombia, the lane snapper *Lutjanus synagris* is considered vulnerable to overfishing due to its biological characteristics, habitat deterioration, and historical decrease in catch rates in regions where it used to comprise the highest percentage of the landings. In order to generate more biological information needed to make effective fishery management decisions and policies, the genetic structure of *L. synagris* was analyzed in three areas of the Colombian Caribbean (Santa Marta, Rosario Islands, and Capurganá) using microsatellite-type molecular markers. Fourteen primers reported for two phylogenetically close species (*Rhomboplites aurorubens* and *Lutjanus campechanus*) were analyzed, eight of which were polymorphic and informative for the species under study. All loci were found to depart from Hardy-Weinberg equilibrium due to marked heterozygote deficiency in all the populations studied. Both the analysis of molecular variance (total population $\Phi_{ST} = 0.006$, $P = 0.022$) and spatial analysis of molecular variance showed a slight statistically significant population structure (best $F_{CT} = 0.003$, $\Phi_{ST} = 0.007$, $P = 0.0001$) that separated the Capurganá population from those of the other areas with no evidence of isolation by distance (Mantel test $R_{xy} = 0.023$, $P = 0.057$). The results suggest that the life history of the species and the regional oceanographic conditions play an important role in determining the genetic structure and the existence of two different genetic stocks that should be managed according to their population structure.

Key words: population genetics, microsatellites, AMOVA, SAMOVA, fish stocks.

Resumen

Las especies de la familia Lutjanidae constituyen un importante recurso pesquero alrededor de las zonas marinas tropicales en el mundo y son explotadas intensivamente por su excelente calidad y valor comercial. En Colombia, *Lutjanus synagris* o pargo rayado, podría considerarse vulnerable a la sobreexplotación debido a sus características biológicas, al deterioro de su hábitat y a la disminución histórica de su captura en regiones donde representaba el mayor porcentaje de la pesca. Con el ánimo de generar información biológica que permita apoyar decisiones y políticas más adecuadas de manejo pesquero se analizó la estructura genética de *L. synagris* en tres regiones del Caribe Colombiano (Santa Marta, Islas del Rosario y Capurganá) mediante marcadores moleculares tipo microsatélite. Para tal fin se evaluaron 14 cebadores reportados para dos especies filogenéticamente cercanas (*Rhomboplites aurorubens* y *Lutjanus campechanus*) de los cuales ocho fueron polimórficos e informativos para la especie en estudio. Se encontró que todos los loci estaban muy alejados del equilibrio de Hardy-Weinberg debido a una marcada deficiencia de heterocigotos observada en todas las poblaciones estudiadas. Tanto el análisis de varianza molecular (Φ_{ST} en la población total = 0.006, $P = 0.022$) como el análisis espacial de varianza molecular mostraron una leve estructuración poblacional estadísticamente significativa (mejor $F_{CT} = 0.003$, $\Phi_{ST} = 0.007$, $P = 0.0001$) que separó la población de Capurganá de las demás regiones sin evidencia de aislamiento por distancia (Prueba de Mantel $R_{xy} = 0.023$, $P = 0.057$). Los resultados sugieren un papel importante de la historia de vida de la especie y las condiciones oceanográficas predominantes en dicha región en la determinación de la estructura genética y la existencia de dos stocks genéticos distintos que deben ser manejados de acuerdo a su estructura poblacional.

Palabras clave: genética de poblaciones, microsatélites, AMOVA, SAMOVA, stocks pesqueros.

Introduction

The lane snapper *Lutjanus synagris* (Lutjanidae, L 1758) is a demersal, generalist carnivore, trophically opportunistic species, distributed throughout the Caribbean Sea from North Carolina (USA) to southeastern Brazil (Cervigón 1993). Its increasing commercial value and demand has made it a

Introducción

El pargo rayado *Lutjanus synagris* (Lutjanidae, L 1758) es una especie demersal, carnívora generalista y oportunista trófica que se distribuye a lo largo del Mar Caribe, desde Carolina del Norte (EUA) hasta el sureste de Brasil (Cervigón 1993). Su creciente demanda y valor comercial lo han convertido en una

valuable source of income for regional fisheries in countries like Bermuda, Cuba, Puerto Rico, Venezuela, and Colombia (Luckhurst *et al.* 2000, Claro *et al.* 2001, Gómez *et al.* 2001).

Several fishery and biological aspects indicate that *L. synagris* is vulnerable to overfishing in Colombia: (1) the biological characteristics of the species such as slow growth, late sexual maturity, and breeding (Coleman *et al.* 2000, Luckhurst *et al.* 2000, Claro *et al.* 2001); (2) the heavy fishing pressure exerted by the artisanal and semi-industrial fleets (Mejía and Acero 2002, Manjarrés 2004); (3) the increased fishing effort in the Caribbean region due to technical and technological innovations in the artisanal fishery (Manjarrés 2004); (4) the historical decrease in lane snapper catch rates in both the artisanal (Correa and Manjarrés 2004) and industrial trawling fleets (Viaña *et al.* 2004); (5) the deterioration of the coral reefs, lagoons, and marshes where this species recruits, develops, and lives (Mejía and Acero 2002); and (6) the reduced maturation time in areas subject to greater fishing intensity (Arteaga *et al.* 2004).

Though several studies have dealt with biological and fishery aspects of *L. synagris* (compiled by Manjarrés 2004), little information is available regarding the differentiation of Colombian stocks, which is essential for the definition and management of fishery units. There are only two studies in which morphometric and meristic characters were used to identify two possible stocks in the Guajira and Santa Marta populations (Gómez 2002, Rodríguez 2004), but the panorama of other areas in the southern Caribbean is not yet known.

Unlike *L. synagris*, other species of the family Lutjanidae have been analyzed to delimit stocks and implement management policies. This research has involved the genetic analysis of populations using molecular markers like mitochondrial DNA and microsatellite regions (Bagley *et al.* 1999, Gold *et al.* 2001a, Hauser *et al.* 2002, Ovenden and Street 2003, Rocha-Olivares and Sandoval-Castillo 2003, Garber *et al.* 2004, Pruett *et al.* 2005, Saillant and Gold 2006). Similar studies are lacking for *L. synagris*, for which species-specific primers have not been developed to amplify microsatellite regions.

This study aimed to generate information that will contribute to the knowledge and definition of management units and to a multidisciplinary approach in the design of fishery management plans for the species, by analyzing the diversity and genetic structure of *L. synagris* populations in the Colombian Caribbean using microsatellite sequences that have been reported for other species of the family Lutjanidae.

Material and methods

Sample collection and DNA isolation

A total of 240 *L. synagris* adults (80 individuals per area) were sampled, obtained from artisanal fisheries operating in three coral areas of Colombia (southern Caribbean) influenced by different oceanographic conditions (Díaz *et al.* 2000, see Ospina-Guerrero *et al.* 2008): Santa Marta, Rosario Islands,

valiosa fuente de ingresos para las pesquerías regionales de países como Bermudas, Cuba, Puerto Rico, Venezuela y Colombia (Luckhurst *et al.* 2000, Claro *et al.* 2001, Gómez *et al.* 2001).

Varios aspectos biológico-pesqueros sugieren que *L. synagris* puede ser considerada una especie vulnerable a la sobreexplotación en Colombia: (1) las características biológicas de la especie tales como crecimiento lento, madurez sexual tardía y temporadas de migraciones de agregación reproductiva (Coleman *et al.* 2000, Luckhurst *et al.* 2000, Claro *et al.* 2001); (2) la marcada presión de pesca de la flota artesanal y semindustrial (Mejía y Acero 2002, Manjarrés 2004); (3) el aumento del esfuerzo pesquero en la región del Caribe debido a innovaciones técnicas y tecnológicas a las flotas artesanales (Manjarrés 2004); (4) la disminución histórica en las capturas del pargo rayado tanto por la flota artesanal (Correa y Manjarrés 2004) como por la flota industrial de arrastre (Viaña *et al.* 2004); (5) el deterioro de los arrecifes coralinos, lagunas y ciénagas, que son sus hábitats de reclutamiento, desarrollo y residencia (Mejía y Acero 2002); y (6) la disminución del tiempo de madurez de *L. synagris* en sitios con mayor esfuerzo pesquero (Arteaga *et al.* 2004).

A pesar de varios estudios que involucran aspectos biológicos y pesqueros de *L. synagris* (recopilados por Manjarrés 2004), existe poca información disponible en relación con la diferenciación de stocks en Colombia, la cual es crucial para la definición y manejo de las unidades pesqueras. En este sentido sólo se han realizado dos trabajos en donde se utilizaron la morfometría y la merística para la identificación de dos posibles stocks entre las poblaciones de la Guajira y Santa Marta (Gómez 2002, Rodríguez 2004), pero se desconoce el panorama en otras zonas del sur del Mar Caribe.

A diferencia de lo que ocurre con *L. synagris*, en otras especies de la familia Lutjanidae se han desarrollado más estudios para delimitar stocks e implementar políticas de manejo. Estos trabajos involucran el análisis genético de poblaciones con marcadores moleculares tales como regiones microsatélites y marcadores de ADN mitocondrial (Bagley *et al.* 1999, Gold *et al.* 2001a, Hauser *et al.* 2002, Ovenden y Street 2003, Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo 2003, Garber *et al.* 2004, Pruett *et al.* 2005, Saillant y Gold 2006), los cuales no han sido implementados hasta la fecha para *L. synagris*, especie para la cual no se han desarrollado cebadores especie-específicos que amplifiquen regiones microsatélites.

Con miras a generar información que contribuya al conocimiento y definición de unidades de manejo y para la integración multidisciplinaria en el diseño de planes de manejo pesquero para la especie, en el presente trabajo se analizó la diversidad y estructura genética de poblaciones de *L. synagris* en el Caribe Colombiano con la ayuda de secuencias microsatélites que han sido reportadas para otras especies de la familia Lutjanidae.

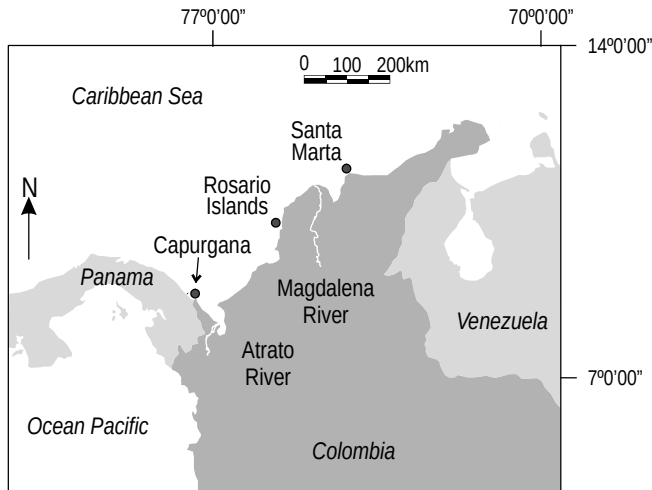


Figure 1. Geographic location of three coralline areas (●) in the southern Caribbean (Colombia) where *Lutjanus synagris* was collected.
Figura 1. Localización geográfica de tres áreas coralinas (●) en el Caribe Sur (Colombia) en donde se realizaron las colectas de *Lutjanus synagris*.

and Capurganá (fig. 1). Sampling was conducted in October 2004 to coincide with the season of maximum species abundance and in the opposite direction of the regional oceanographic currents to avoid capturing the same populations in movement.

The EDTA-treated blood of each individual was preserved in ethanol and transported to the laboratory for DNA extraction according to the method proposed by Martínez *et al.* (1998). The concentration of the extracted DNA was determined using a VersaFluor fluorometer (Bio-Rad, Philadelphia) following the recommendations and specifications described in the Fluorescent DNA Quantification Kit (Bio-Rad, Philadelphia). To evaluate the quality of the extracted DNA, 1 μ L of each sample was analyzed by 0.8% agarose gel electrophoresis in 1 $\times$ TBE buffer (Sambrook *et al.* 1989), at a constant voltage (80 V) for 1 h, and stained with ethidium bromide (Amresco, Ohio).

Microsatellite markers

We used 14 specific primers for microsatellite regions of species known to be phylogenetically close to *L. synagris*, selected based on the level of genetic polymorphism, similarity in annealing temperatures, the repetition unit, and fragment size larger than 150 bp. We selected seven primers initially developed for *Rhomboplites aurorubens* (Ra1, Ra2, Ra3, Ra5, Ra6, Ra7, and Ra11, Bagley and Geller 1998) and another seven for *Lutjanus campechanus* (Lca22, Lca27, and Lca91, Heist and Gold 2000; Prs221, Prs229, Prs303, and Prs55, Gold *et al.* 2001a). For PCR amplification of the 14 microsatellite loci, the previously described conditions were used with modifications in the temperatures and alignment time of the primers.

Materiales y métodos

Recolección de la muestra y aislamiento de ADN

Se muestreó un total de 240 adultos de *L. synagris* (80 individuos/área) provenientes de la pesca artesanal en tres áreas coralinas colombianas del sur del Caribe, influenciadas por diferentes condiciones oceanográficas (Díaz *et al.* 2000, ver Ospina-Guerrero *et al.* 2008): Santa Marta, Islas del Rosario y Capurganá (fig. 1). El muestreo se realizó durante octubre de 2004 para coincidir con la época de mayor abundancia de la especie y en sentido contrario al sistema de corrientes oceanográficas de la región para evitar capturar las mismas poblaciones en movimiento.

La sangre de cada individuo tratada con EDTA se preservó en etanol y se transportó al laboratorio en donde se extrajo el ADN según la metodología propuesta por Martínez *et al.* (1998). La concentración de ADN extraído se determinó por medio de un fluorómetro VersaFluor (Bio-Rad, Filadelfia) siguiendo las recomendaciones y especificaciones descritas en el kit comercial para la cuantificación fluorescente de DNA de Bio-Rad (Filadelfia). Para evaluar la calidad del ADN extraído, se realizó la electroforesis de 1 μ L de cada muestra en geles de agarosa al 0.8% en amortiguador TBE 1 $\times$ (Sambrook *et al.* 1989) a un voltaje constante de 80V por 1 h y se tiñó con bromuro de etidio (Amresco, Ohio).

Marcadores microsatélites utilizados

Se utilizaron 14 cebadores específicos para regiones microsatélites de especies filogenéticamente cercanas a *L. synagris* los cuales se seleccionaron con base en el nivel de polimorfismo genético, la similitud en las temperaturas de alineamiento, la simplicidad en la unidad de repetición y un tamaño de fragmento superior a 150 pb. Se seleccionaron siete cebadores desarrollados inicialmente para *Rhomboplites aurorubens* (Ra1, Ra2, Ra3, Ra5, Ra6, Ra7 y Ra11, Bagley y Geller 1998) y otros siete para *Lutjanus campechanus* (Lca22, Lca27 y Lca91, Heist y Gold 2000; Prs221, Prs229, Prs303 y Prs55, Gold *et al.* 2001a). Para la amplificación por PCR de los 14 loci microsatélites se utilizaron las condiciones previamente descritas con modificaciones en las temperaturas y el tiempo de alineamiento de los cebadores.

Genotipificación

Para la genotipificación, las reacciones de amplificación se realizaron en un volumen final de 10 μ L, con amortiguador de PCR 1 $\times$ (Invitrogen, California), 2.5 mM de $MgCl_2$, 0.2 mM de dNTPs, 50 μ M de cada uno de los cebadores, 2% de formamida (Amresco, Ohio), 0.005 unidades μ L⁻¹ de Taq recombinante (Invitrogen, California) y 2.5 ng μ L⁻¹ de ADN. El cebador derecho de todos los pares de cebadores fue marcado fluorescentemente con Cy5.0 o Cy5.5 (MWG Biotech,

Genotypification

Amplification reactions were performed in a final volume of 10 μL 1 $\times$ PCR buffer (Invitrogen, California), 2.5 mM MgCl_2 , 0.2 mM dNTPs, 50 μM of each primer, 2% formamide (Amresco, Ohio), 0.005 units μL^{-1} recombinant Taq (Invitrogen, California), and 2.5 ng μL^{-1} DNA. Each forward primer was fluorescently labeled with Cy5.0 or Cy5.5 (MWG Biotech, Atlanta). A PTC-200 thermal cycler (MJ Research, Massachusetts) was programmed with a ramp of one, initial denaturation of 1 min at 90°C, and 30 cycles as follows: 15 sec at 94°C; 45 sec at 58°C for primers Lca22, Lca27, Ra1, Ra5, Ra6, and Ra7, or 45 sec at 56°C for primers Lca91, Ra2, Prs229, and Prs221; 15 sec at 72°C; and a final extension of 30 min at 72°C.

Allele size was determined using a Long-Read Tower System automated sequencer and its consumables, according to the manuals provided by the manufacturer. The instrument was programmed to read both fluorochromes in order to include two individuals per well, under the following conditions: 1500 V, 58°C temperature, 50% laser power, 1 sec for reading, and running for 45 min in the presence of 1 $\times$ TBE. Each polyacrylamide gel (cassette) was used for three independent runs and 0.2 μL denaturated PCR was seeded in each well with its respective control at a ratio of 1:1 for each fluorochrome. The size of each amplification was calculated using GeneObjects 3.0 software (Bayer) and internal markers of known size (237–245 and 206–210 bp) as reference. To select the true peak and determine the homozygotic or heterozygotic conditions, the recommendations made by Butler (2001) were followed.

Data analysis

Genetic diversity was estimated for the total population and for each subpopulation by calculating the average number of alleles per locus, the number of polymorphic loci, and the observed and expected average heterozygosity, using GenAlEx 6.0 software (Peakall and Smouse 2006). Departures from Hardy-Weinberg equilibrium and linkage disequilibrium were estimated with the Fisher exact probability test described by Raymond and Rousset (1995), using Genepop 3.4 software (Raymond and Rousset 2003) and adjusting the significance values with the Bonferroni test (Rice 1989).

To evaluate the genetic differentiation of the total population, between pair-wise populations and among oceanographic scenarios, we used statistic Φ_{ST} for the analysis of molecular variance (AMOVA) (Excoffier *et al.* 1992) included in the GenAlEx 6.0 software (Peakall and Smouse 2006), with 10,000 permutations and Bonferroni (Dunn-Sidak) adjustment to the 95% confidence interval (Sokal and Rohlf 1995). Genetic isolation by distance was evaluated by the Mantel test (Mantel 1967), following the method proposed by Smouse *et al.* (1986) included in the GenAlEx 6.0 software (Peakall and Smouse 2006), with 10,000 permutations and a 95% significance level. Genetic differentiation among populations was assessed using the SAMOVA 1.0 software, with 100 initial

Atlanta). Se programó un termociclador PTC-200 (MJ Research, Massachusetts) con una rampa de uno, una desnaturación inicial de 1 min a 90°C, seguida de 30 ciclos con el siguiente perfil: 15 seg a 94°C, 45 seg a 58°C para los cebadores Lca22, Lca27, Ra1, Ra5, Ra6 y Ra7 ó 45 seg a 56°C para los cebadores Lca91, Ra2, Prs229, Prs221, 15 seg a 72°C, y una extensión final de 30 min a 72°C.

El tamaño de los alelos se determinó en un secuenciador automático Long-Read Tower System con sus consumibles, de acuerdo con los manuales provistos por el fabricante. El equipo se programó para leer ambos fluorocromos con el fin de incluir dos individuos por pozo, bajo condiciones de corrido de 1500 V, 58°C de temperatura, 50% de potencia del láser, 1 seg de lectura y 45 min de corrido en presencia de TBE 1 $\times$. Cada gel de poliacrilamida (cassette) fue utilizado para tres corridas independientes y se sembró en cada pozo 0.2 μL de PCR desnaturada con su respectivo control a una proporción 1:1 para cada fluorocromo. El tamaño de cada amplificado se calculó con el software GeneObjects 3.0 (Bayer) utilizando como referencia marcadores internos de tamaño conocido (237–245 y 206–210 pb). Para la selección del pico verdadero y la determinación de su condición de homocigoto o heterocigoto, se siguieron las recomendaciones de Butler (2001).

Análisis de datos

La diversidad genética se estimó para toda la población y para cada una de las subpoblaciones mediante el cálculo del promedio de alelos por *locus*, el número de *loci* polimórficos y la heterocigosidad media observada y esperada, utilizando el programa GenAlEx V 6.0 (Peakall y Smouse 2006). Las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento se estimaron con la prueba de probabilidad de Fisher descrita por Raymond y Rousset (1995) usando el programa Genepop 3.4 (Raymond y Rousset 2003) y ajustando los valores de significancia con la prueba de Bonferroni (Rice 1989).

Para evaluar la diferenciación genética de toda la población, entre pares de poblaciones y entre escenarios oceanográficos, se utilizó el estadístico Φ_{ST} para el análisis de varianza molecular (AMOVA; Excoffier *et al.* 1992) del programa GenAlEx V 6.0 (Peakall y Smouse 2006) con 10,000 permutaciones y un ajuste al intervalo de confianza por Bonferroni (Dunn-Sidak) al 95% (Sokal y Rohlf 1995). La diferenciación genética debida al aislamiento por distancia se evaluó con la prueba de Mantel (Mantel 1967) siguiendo el método de Smouse *et al.* (1986) implementado en el programa GenAlEx V 6.0 (Peakall y Smouse 2006) con 10,000 permutaciones y un nivel de significancia de 95%. La diferenciación genética entre poblaciones también se evaluó mediante el programa SAMOVA 1.0 utilizando 100 configuraciones iniciales, dos grupos, 10,000 permutaciones y un nivel de significancia de 95% (Dupanloup *et al.* 2002).

configurations, two groups, 10,000 permutations, and a 95% significance level (Dupanloup *et al.* 2002).

Results

Selection of microsatellite markers

Ten of the 14 primers evaluated showed optimum amplification and eight were sufficiently polymorphic to be included in this analysis. Primers Prs55, Prs303, Ra3, and Ra11 did not amplify under the different reaction mixtures and thermal profiles examined in this study.

Genetic diversity

Allele size ranged from 116 to 261 bp and the average number of alleles per locus was 14 (ranging from 6 to 27), with Ra5, Prs229, Ra1, Lca22, and Lca 91 exhibiting a higher level of polymorphism (table 1). All the microsatellite loci evaluated showed heterozygote deficiency with the consequent departure from Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.001$; tables 1, 2). Linkage disequilibrium was not detected for any of the loci pairs evaluated in the three populations ($P > 0.05$).

Genetic differentiation

A small but statistically significant differentiation was found between the Capurganá and the other two (Santa Marta and Rosario Islands) geographic populations, by both AMOVA (total population $\Phi_{ST} = 0.006$, $P = 0.022$) and SAMOVA (best $F_{CT} = 0.003$, $\Phi_{ST} = 0.007$, $P = 0.0001$). A similar result was obtained when the oceanographic scenario between Capurganá and other populations was assessed (Atrato River and Panama-Colombia Countercurrent; table 3, fig. 1). We found no significant correlation between genetic and geographic distance ($R_{xy} = 0.015$, $P = 0.142$, $R^2 = 0.0002$) among the *L. synagris* populations evaluated.

Resultados

Selección de marcadores microsatelites

De los 14 cebadores evaluados, 10 mostraron amplificación óptima y ocho fueron lo suficientemente polimórficos para ser incluidos en este análisis. Los cuatro cebadores Prs55, Prs303, Ra3 y Ra11, no amplificaron bajo diferentes mezclas de reacción y perfiles térmicos examinados en este estudio.

Diversidad génica

El tamaño alélico varió desde 116 hasta 261 bp y el promedio de alelos por locus fue de 14, con un rango de 6 a 27, de los cuales Ra5, Prs229, Ra1, Lca22 y Lca 91 presentaron el mayor nivel de polimorfismo (tabla 1). Todos los loci microsatélite evaluados presentaron déficit de heterocigosidad con la consecuente desviación del equilibrio Hardy-Weinberg ($P < 0.001$; tablas 1, 2) y no se detectó desequilibrio de ligamiento en ninguno de los pares de loci evaluados en las tres poblaciones ($P > 0.05$).

Diferenciación genética

Se encontró una diferenciación pequeña pero estadísticamente significativa entre la población de Capurganá y las otras dos poblaciones geográficas tanto por AMOVA (Φ_{ST} en toda la población = 0.006, $P = 0.022$) como por SAMOVA (mejor $F_{CT} = 0.003$, $\Phi_{ST} = 0.007$, $P = 0.0001$). Se encontró un resultado similar cuando se evaluó el escenario oceanográfico entre Capurganá y las otras poblaciones (Río Atrato y la Contracorrente Panamá-Colombia; tabla 3, fig. 1). No se encontró correlación significativa entre la distancia genética y la geográfica ($R_{xy} = 0.015$, $P = 0.142$, $R^2 = 0.0002$) entre las poblaciones de *L. synagris* evaluadas.

Table 1. Genetic diversity of eight microsatellite loci from *Lutjanus synagris* in the Colombian Caribbean. N: number of specimens examined, Na: number of alleles per locus, H_O : observed heterozygosity, H_E : expected heterozygosity, F: fixation index, SR: size range in base pairs found per locus. * Statistical departure from Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.01$).

Tabla 1. Diversidad genética en ocho loci microsatélite de *Lutjanus synagris* en el Caribe Colombiano. N: número de individuos muestreados, Na: número de alelos por locus, H_O : heterocigosidad observada, H_E : heterocigosidad esperada, F: índice de fijación, SR: rango de tamaños en pares de bases encontrados por locus. * Desviación significativa del equilibrio Hardy-Weinberg ($P < 0.01$).

Locus	N	Na	H_O	H_E	F	SR
Ra1	209	13	0.388	0.821	0.528*	140–164
Ra5	216	27	0.273	0.936	0.708*	161–215
Ra6	214	10	0.065	0.573	0.886*	147–171
Ra7	229	6	0.341	0.564	0.396*	178–188
Lca22	209	14	0.187	0.774	0.759*	231–261
Lca27	220	10	0.236	0.772	0.694*	116–136
Lca91	228	11	0.548	0.776	0.294*	134–164
Prs229	204	20	0.152	0.910	0.833*	121–159

Table 2. Genetic diversity of three *Lutjanus synagris* populations in the Colombian Caribbean. N: number of specimens examined, Na: number of alleles per locus, H_O : observed heterozygosity, H_E : expected heterozygosity, F: fixation index. * Statistical departure from Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.01$).

Tabla 2. Diversidad genética de tres poblaciones de *Lutjanus synagris* en el Caribe Colombiano. N: número de individuos muestreados, Na: número de alelos por locus, H_O : heterocigosidad observada, H_E : heterocigosidad esperada, F: índice de fijación. * Desviación significativa del equilibrio Hardy-Weinberg ($P < 0.01$).

Population	Locus	N	Na	H_O	H_E	F
Santa Marta	Ra5	69	24	0.217	0.916	0.763
	Prs229	71	16	0.155	0.891	0.826
	Ra1	67	11	0.493	0.852	0.422
	Lca22	65	11	0.262	0.785	0.667
	Lca91	75	8	0.507	0.780	0.351
	Lca27	67	8	0.194	0.739	0.737
	Ra6	65	7	0.077	0.506	0.848
	Ra7	75	4	0.360	0.537	0.330
Rosario Islands	Ra5	75	27	0.293	0.937	0.687
	Prs229	74	19	0.108	0.920	0.883
	Ra1	77	11	0.377	0.795	0.526
	Lca22	77	11	0.182	0.782	0.768
	Lca91	78	11	0.590	0.777	0.241
	Lca27	79	9	0.266	0.764	0.652
	Ra6	80	6	0.075	0.537	0.860
	Ra7	79	5	0.253	0.533	0.525
Capurganá	Ra5	72	25	0.306	0.935	0.673
	Prs229	59	16	0.203	0.877	0.768
	Ra1	65	13	0.292	0.795	0.632
	Lca22	67	11	0.119	0.743	0.839
	Lca91	75	7	0.547	0.744	0.265
	Lca27	74	9	0.243	0.788	0.691
	Ra6	69	5	0.043	0.638	0.932
	Ra7	75	5	0.413	0.608	0.321

Discussion

This study evaluated the genetic diversity and population structure of *L. synagris* in several regions of the Colombian Caribbean by adapting eight microsatellite markers previously reported for phylogenetically close species.

Genetic diversity

Our findings show a high degree of polymorphism, evidenced by the high average number of alleles per locus, suggesting that the eight loci selected are informative for *L. synagris*. Compared with previously published data for other species, the average number of alleles per locus was higher for Lca91 and Prs229 (11 of 8 and 20 of 8, respectively) and lower for Ra6 and Lca27 (10 of 23 and 10 of 19, respectively) (Bagley and Geller 1998, Heist and Gold 2000, Gold *et al.*

Discusión

En el presente trabajo se realizó un estudio de la diversidad génica y estructuración poblacional de *L. synagris* en varias regiones del Caribe Colombiano, mediante la adaptación de ocho marcadores microsatélites previamente reportados para especies filogenéticamente cercanas.

Diversidad génica

Los resultados de este estudio muestran un alto grado de polimorfismo, evidenciado en el elevado promedio de alelos por locus, que sugiere que los ocho loci seleccionados son informativos para *L. synagris*. En comparación con datos previamente publicados para otras especies, se encontró un promedio de alelos por locus mayor en los loci Lca91 y Prs229 (11 de 8 y 20 de 8, respectivamente) y menor en los loci Ra6 y

Table 3. Estimators of gene flow between pair-wise *Lutjanus synagris* populations and among oceanographic scenarios in the southern Caribbean Sea.
 Tabla 3. Estimadores del flujo genético entre pares de poblaciones de *Lutjanus synagris* y entre los escenarios oceanográficos en el sur del Mar Caribe.

	Φ_{ST}	<i>P</i>
Geographic populations (geographic distance)		
Capurganá–Santa Marta (471 km)	0.0100	0.011
Rosario Islands–Capurganá (245 km)	0.0080	0.021
Rosario Islands–Santa Marta (227 km)	0.0003	0.420
Oceanographic scenarios		
Panama–Colombia Countercurrent	0.0900	0.040
Atrato River	0.0080	0.021
Central Caribbean Current	0.0030	0.155
Magdalena River	0.0003	0.420

2001a). This is similar to that found for *Pragus auratus*, where four of the primers originally developed for *P. mayor* were more informative than four of the specific primers (Adcock *et al.* 2000), and supports a prior observation that the variation of microsatellites differs among species of the same class of vertebrates and is likely related to population dynamics (Neff and Gross 2001).

Levels of heterozygosity

All the loci evaluated showed marked heterozygosity deficiency with the consequent departure from Hardy-Weinberg equilibrium. This deficit has also been reported for some loci from *Rhomboplites aurorubens* (Bagley *et al.* 1999) and initially interpreted as possible genotypification errors due to the presence of stutter products (Shinde *et al.* 2003), dominance of short alleles (Wattier *et al.* 1998), or presence of null alleles (Shaw *et al.* 1999), even though this characteristic seems to be a common trait in invertebrate (Ball and Chapman 2003, Sato *et al.* 2005, Tello-Cetina *et al.* 2005, R Pérez *et al.* 2006) as well as vertebrate marine organisms (Ovenden and Street 2003, Takagi *et al.* 2003, Clark *et al.* 2004, O'Reilly *et al.* 2004, A Pérez *et al.* 2006).

In the present study, heterozygosity deficiency cannot be explained by the Wahlund effect (Wahlund 1928) due to the absence of correlation between the genetic and geographic distances (Mantel test $R_{xy} = 0.023$, $P = 0.057$). Moreover, it does not appear to be indicative of associative reproduction due to the breeding habits of the species in which gametes are released simultaneously for fecundation.

As this is the first study aiming to determine the genetic diversity of *L. synagris* populations, there is no prior information that can be used to analyze the possible loss of genetic diversity over time. Nevertheless, the possibility of endogamic processes cannot be discarded for this species in a Colombian Caribbean scenario if some fishery parameters are considered that suggest fishing pressure (Mejía and Acero 2002, Manjarrés 2004), such as a decrease in historical catches in the past few years (Correa and Manjarrés 2004, Viaña *et al.* 2004)

Lca27 (10 de 23 y 10 de 19, respectivamente) (Bagley y Geller 1998, Heist y Gold 2000, Gold *et al.* 2001a). Lo anterior es similar a lo encontrado para *Pragus auratus*, en el que cuatro cebadores desarrollados originalmente en *Pragus mayor* fueron más informativos que cuatro de los cebadores específicos (Adcock *et al.* 2000) y apoyan la observación previa de que la variación de microsatélites difiere entre las especies de la misma clase de vertebrados y está posiblemente relacionado con la dinámica poblacional (Neff y Gross 2001).

Niveles de heterocigosidad

En este estudio se encontró un marcado déficit de heterocigosidad en todos los loci evaluados con la consecuente desviación del equilibrio Hardy-Weinberg. Esta deficiencia también ha sido reportada para algunos loci en *Rhomboplites aurorubens* (Bagley *et al.* 1999) e interpretada inicialmente como posibles errores de genotipificación por la presencia de picos fantasmas (Shinde *et al.* 2003), la dominancia de alelos pequeños (Wattier *et al.* 1998), o la presencia de alelos nulos (Shaw *et al.* 1999) aun cuando esta característica parece ser un rasgo común tanto en organismos marinos invertebrados (Ball y Chapman 2003, Sato *et al.* 2005, Tello-Cetina *et al.* 2005, R Pérez *et al.* 2006) como en vertebrados (Ovenden y Street 2003, Takagi *et al.* 2003, Clark *et al.* 2004, O'Reilly *et al.* 2004, A Pérez *et al.* 2006).

En este trabajo, la deficiencia de heterocigosidad no puede ser explicada por el efecto Wahlund (Wahlund 1928) debido a la ausencia de correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica (prueba de Mantel $R_{xy} = 0.023$, $P = 0.057$) y tampoco parece ser indicativo de apareamiento asociativo debido a los hábitos reproductivos de la especie, en la que los gametos se liberan simultáneamente para la fecundación.

Debido a que éste es el primer trabajo en el que se intenta conocer la diversidad genética poblacional de *L. synagris* no se cuenta con información previa que permita explorar la posibilidad de pérdida de diversidad genética en el tiempo; sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de procesos endogámicos para esta especie en el escenario del Caribe

and a reduced maturation time at sites subject to greater fishing effort (Arteaga *et al.* 2004). A similar situation has occurred with the overfishing of *Pragus auratus* in New Zealand fisheries (Hauser *et al.* 2002) and of *Diplodus sargas* in unprotected areas (Rowe and Hutchings 2003).

Genetic differentiation

Evidence was found of slight genetic divergence between the Capurganá and the Rosario Islands and Santa Marta populations, which could indicate the presence of barriers among these populations and the existence of two fishery stocks that should be managed according to their population structure. The Santa Martha stock has been previously evidenced by morphometric and meristic analysis (Gómez 2002, Rodríguez 2004) and the genetic data obtained in the present study suggest that this stock is similar to that from the Rosario Islands but differs from the Capurganá stock.

The genetic divergence observed could be attributed to differences in the continental shelf between Capurganá (wide) and the region of the Rosario Islands (narrow) and Santa Marta (continental slope), since this species shows a clear association with the shelf bottom where it hides and usually feeds (Acero and Garzón 1985). This is a common behaviour of demersal marine fishes, and shelf topography, depth, and sediment type are factors that determine the population structure (Duponchelle *et al.* 2000). Another observation supporting this premise is that demersal populations that inhabit shallow waters exhibit greater population fragmentation than species that inhabit deep waters because the latter encounter fewer physical barriers for their movements and, therefore, for gene flow (Newman *et al.* 1996).

Since the Panama-Colombia Countercurrent may favour rather than limit gene flow, the genetic differentiation between geographic populations found in this study could be explained by the presence of the Atrato River. The fact, however, that gene flow was detected in the same oceanographic scenario for *Stegastes partitus* (Ospina-Guerrero *et al.* 2008), a species that presents territorial behaviour in adult stages and pelagic larval dispersion, indicates that the life strategy of the species adapted to the oceanographic scenario exerts a stronger influence than the presence of the Atrato River, the marine currents, or the geographic distance. Similar results have been reported for the Florida peninsula, where marked genetic substructuring was not detected among populations of *Rhomboplites aurorubens* (Bagley *et al.* 1999), whereas in the same oceanographic scenario, geographic structuring was detected for *Scomberomorus cavalla* (Gold *et al.* 2001b). The role of life history in determining the population structure was also mentioned in a recent study on *Lutjanus campechanus* in the northern Gulf of Mexico, where similar to our findings, a slight but significant structuring of populations was observed over short distances with no evidence of isolation by distance (Saillant and Gold 2006). Genetic structuring was also detected for *Coryphaena hippurus* by RFLPs of the

Colombiano, si se consideran algunos parámetros pesqueros que sugieren presión de pesca (Mejía y Acero 2002, Manjarrés 2004), como la disminución en las capturas históricas en los últimos años (Correa y Manjarrés 2004, Viaña *et al.* 2004) y la disminución del tiempo de madurez en sitios con mayor esfuerzo pesquero (Arteaga *et al.* 2004). Una situación similar ha ocurrido con la sobreexplotación de *Pragus auratus* en las pesquerías de Nueva Zelanda (Hauser *et al.* 2002) y con la sobrepesca de *Diplodus sargas* en áreas no protegidas (Rowe y Hutchings 2003).

Diferenciación genética

En el presente trabajo se encontró evidencia de una ligera diferenciación genética entre Capurganá y las poblaciones de Islas del Rosario y Santa Marta, lo que podría indicar la presencia de barreras entre estas poblaciones y la existencia de dos stocks pesqueros que deben ser manejados de acuerdo a su estructura poblacional. El stock de Santa Marta fue previamente evidenciado mediante análisis morfométrico y merístico (Gómez 2002, Rodríguez 2004), y los datos genéticos obtenidos en el presente estudio sugieren que es genéticamente similar a las Islas del Rosario y diferente a Capurganá.

La diferenciación genética encontrada podría ser consecuencia de las diferencias en la plataforma continental entre Capurganá (ancha) y la región de Islas del Rosario (estrecha) y Santa Marta (talud continental), debido a que esta especie muestra una marcada asociación con los fondos de la plataforma continental en los que se esconde y usualmente obtiene su alimento (Acero y Garzón 1985). Este comportamiento parece común en especies de peces demersales marinos en las que la profundidad, la topografía de la plataforma y el tipo de sedimento son los factores que determinan la estructura de la población (Duponchelle *et al.* 2000). Otro soporte para esta idea es la observación de que las poblaciones demersales que habitan aguas someras exhiben mayor fragmentación de su población que las especies que habitan las aguas profundas debido a que estas últimas encuentran menos barreras físicas para sus movimientos y por lo tanto para el flujo génico (Newman *et al.* 1996).

Debido a que la contracorriente Panamá-Colombia podría favorecer el flujo génico en lugar de limitarlo, la diferenciación genética entre poblaciones geográficas encontrada en este estudio podría explicarse por la presencia del Río Atrato. Sin embargo, la evidencia de que en el mismo escenario oceanográfico se haya detectado flujo génico en *Stegastes partitus* (Ospina-Guerrero *et al.* 2008), especie que presenta un estado adulto territorialista y una larva pelágica con capacidad de dispersión, es indicio de que la estrategia de vida de la especie adaptada al escenario oceanográfico ejerce una influencia más fuerte que la presencia del Río Atrato, las corrientes marinas o la distancia geográfica por sí solos. Se han encontrado resultados similares en la península de la Florida en donde no se detectó una marcada subestructuración genética entre poblaciones del pargo de profundidad *Rhomboplites aurorubens*,

mitochondrial NADH1 gene (Rocha-Olivares *et al.* 2006), suggesting that the results are probably not a consequence of the genetic markers used.

Analysis of the data presented herein and those previously published by Gómez (2002) and Rodríguez (2004) indicates the existence of at least three different stocks of the Colombian Caribbean *L. synagris* populations (Capurganá, Rosario Islands-Santa Marta, and Guajira), which should be managed according to their population structure. The basic biological information provided for this species serves as reference for future monitoring of the genetic diversity of these populations in the Caribbean Sea.

Acknowledgements

This study was financed by the Colombian Institute for Science and Technology Development “Francisco José de Caldas” (grant 1118-09-13537, contract 181/2003) and the National University of Colombia at Medellín. The authors thank the fishermen as well as the staff of the Colombian Institute for Rural Development at San Andrés and the Special Management Unit of the Colombian National Park System for their assistance during sample collection.

English translation by Christine Harris.

References

- Acero A, Garzón J. 1985. Los pargos (Pisces: Perciformes: Lutjanidae) del Caribe colombiano. *Actual. Biol.* 14(53): 89–99.
- Adcock GJ, Bernal JH, Hauser L, Smith P, Carvalho GR. 2000. Screening of DNA polymorphisms in samples of archived scales from New Zealand snapper. *J. Fish. Biol.* 56: 1283–1287.
- Arteaga E, Ciales MI, Rodríguez DY, Gómez PG, Manjarrés LM. 2004. Dinámica reproductiva de los stocks de pargo rayado *Lutjanus synagris* (Linnaeus, 1758) en el área norte del Caribe Colombiano. In: Manjarrés LM (ed.), *Pesquerías Demersales del Área Norte del Mar Caribe de Colombia y Parámetros Biológico-pesqueros y Poblacionales del Recurso Pargo*. Universidad de Magdalena, Santa Marta, Colombia, pp. 203–215.
- Bagley MJ, Geller JB. 1998. Characterization of microsatellite loci in the vermilion snapper *Rhomboplites aurorubens* (Percoidae: Lutjanidae). *Mol. Ecol.* 7: 1083–1090.
- Bagley MJ, Lindquist DG, Geller JB. 1999. Microsatellite variation, effective population size, and population genetic structure of vermilion snapper, *Rhomboplites aurorubens*, off the southeastern USA. *Mar. Biol.* 134: 609–620.
- Ball AO, Chapman RW. 2003. Population genetic analysis of white shrimp, *Litopenaeus setiferus*, using microsatellite genetic markers. *Mol. Ecol.* 12: 2319–2330.
- Butler J. 2001. *Forensic DNA Typing: Biology and Technology Behind STR Markers*. Academic Press, USA, 322 pp.
- Cervigón F. 1993. *Los Peces Marinos de Venezuela*. Fundación Los Roques, Venezuela, 497 pp.
- Clark TB, Ma L, Saillant E, Gold JR. 2004. Microsatellite DNA markers for population-genetic studies of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) and other species of genus *Thunnus*. *Mol. Ecol. Notes* 4: 70–73.
- Claro R, Lindeman KC, Parenti LR. 2001. *Ecology of the Marine Fishes of Cuba*. Smithsonian Institution, Washington, DC, 450 pp.
- (Bagley *et al.* 1999) mientras que en el mismo escenario oceanográfico se detectó estructuración geográfica para la especie demersal *Scomberomorus cavalla* (Gold *et al.* 2001b). El papel de la historia de vida de la especie en la determinación de la estructura poblacional también fue sugerida en un trabajo reciente con *L. campechanus* en el norte del Golfo de México, en donde al igual que este estudio, se encontró una ligera pero significativa estructuración de las poblaciones en distancias cortas sin que se evidenciara un aislamiento por distancia (Saillant y Gold 2006). También se ha detectado estructuración genética en la especie pelágica *Coryphaena hippurus* usando RFLP del gen mitocondrial NADH1 (Rocha-Olivares *et al.* 2006), lo que sugiere que los resultados probablemente no son consecuencia de los marcadores genéticos utilizados.
- El análisis conjunto de los datos obtenidos en el presente estudio y los previamente publicados por Gómez (2002) y Rodríguez (2004) sugiere que las poblaciones del Caribe Colombiano están estructuradas en por lo menos tres stocks diferentes (Capurganá, Islas del Rosario-Santa Marta y Guajira), los cuales requieren de un manejo acorde con su estructura poblacional. La información biológica obtenida para esta especie deberá servir de base para el monitoreo de la diversidad genética de estas poblaciones en el sur del Mar Caribe.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología “Francisco José de Caldas” (proyecto 1118-09-13537, contrato 181/2003) y la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín a través de la DIME y su laboratorio de Biología Celular y Molecular. Los autores agradecen a los pescadores, el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural seccional San Andrés y la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales territorial Caribe, su colaboración en la recolección de muestras biológicas.

- Coleman FC, Koenig CC, Huntsman GR, Musick JA, Eklund AM, McGovern JC, Chapman RW, Sedberry GR, Grimes CB. 2000. Long-lived reef fishes: The grouper-snapper complex. *Am. Fish. Soc.* 25: 14–20.
- Correa FA, Manjarrés LM. 2004. Recursos de peces demersales explotados por las pesquerías artesanales marítimas de la Guajira, Mar Caribe de Colombia. In: Manjarrés LM (ed.), *Pesquerías Demersales del Área Norte del Mar Caribe de Colombia y Parámetros Biológico-pesqueros y Poblacionales del Recurso Pargo*. Universidad de Magdalena, Santa Marta, Colombia, pp. 77–89.
- Díaz J, Barrios L, Cendales M, Garzón-Ferreira J, Geister J, López-Victoria M, Ospina G, Parra-Velandia F, Pinzón J, Vargas-Ángel B, Zapata F, Zea S. 2000. *Áreas Coralinas de Colombia*. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andreis” INVEMAR, Santa Marta, Colombia, 176 pp.
- Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol. Ecol.* 11: 2571–2581.

- Duponchelle F, Snoeks J, Hanssens M, Agn  se JF, Ribbink A, Msukwa A, Mafuka J, Mandere D. 2000. Morphometric, genetic and ecological comparisons of two important demersal species along a gradient from the South West Arm to Nkhata Bay. In: Duponchelle F, Ribbink A (eds.), Fish Ecology Report. Lake Malawi/Nyasa/Niassa Biodiversity Conservation Project, 325 pp.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.
- Garber AF, Tringali MD, Stuck KC. 2004. Population structure and variation in red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the Gulf of Mexico and Atlantic coast of Florida as determined from mitochondrial DNA control region sequence. *Mar. Biotechnol.* 6: 175–185.
- Gold JR, Pak E, Richardson LR. 2001a. Microsatellite variation among red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the Gulf of Mexico. *Mar. Biotechnol.* 3: 293–304.
- Gold JR, Burrige CP, Turner TF. 2001b. A modified stepping-stone model of population structure in red drum, *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae), from the northern Gulf of Mexico. *Genética* 111: 305–317.
- Gómez G, Guzmán R, Chac  n R. 2001. Par  metros reproductivos y poblacionales de *Lutjanus synagris* en el Golfo de Par  , Venezuela. *Zootec. Trop.* 19: 335–357.
- Gómez PG. 2002. Identificaci  n de stocks de pargo rayado (*Lutjanus synagris*, Linnaeus 1758) en el área norte del Caribe Colombiano. Thesis, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, 145 pp.
- Hauser L, Adcock GJ, Smith PJ, Bernal JH, Carvalho GR. 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). *PNAS* 99(18): 11742–11747.
- Heist EJ, Gold JR. 2000. DNA microsatellites and genetic structure of *Lutjanus campechanus* in the Gulf of Mexico. *Trans. Am. Fish. Soc.* 129: 469–475.
- Luckhurst B, Dean JM, Reichert M. 2000. Age, growth and reproduction of the lane snapper *Lutjanus synagris* (Pisces: Lutjanidae) at Bermuda. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 203: 255–261.
- Manjarrés LM. 2004. Pesquerías Demersales del   rea Norte del Mar Caribe de Colombia y Parámetros Biológico-pesqueros y Poblacionales del Recurso Pargo. 1st ed. Universidad de Magdalena, Santa Marta, Colombia, 318 pp.
- Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209–220.
- Martínez G, Shaw EM, Carrillo M, Zanuy S. 1998. Protein salting-out method applied to genomic DNA isolation from fish whole blood. *Biotechniques* 24: 238–239.
- Mejía LS, Acero A. 2002. Libro Rojo de Peces Marinos de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, 173 pp.
- Neff BD, Gross MR. 2001. Microsatellite evolution in vertebrates: Inference from AC dinucleotide repeats. *Evolution* 55: 1717–1733.
- Newman S, Williams D, Russ G. 1996. Variability in the population structure of *Lutjanus adetti* and *L. quinquelineatus* among reefs in the central Great Barrier Reef. *Fish. Bull.* 94: 313–329.
- O'Reilly PT, Canino MF, Bailey K, Bentzen MP. 2004. Inverse relationship between FST and microsatellite polymorphism in the marine fish, walleye pollock (*Theragra chalcogramma*): Implications for resolving weak population structure. *Mol. Ecol.* 13: 1799–1814.
- Ospina-Guerrero SP, Land  nez-García RM, Rodríguez-Castro DJ, Arango R, Márquez E. 2008. Genetic connectivity of *Stegastes partitus* in the South Caribbean evidenced by microsatellite analysis. *Cienc. Mar.* 34: 155–163.
- Ovenden JR, Street R. 2003. Genetic population structure of mangrove jack, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal). *Mar. Freshwat. Res.* 54: 127–137.
- Peakall R, Smouse PE. 2006. Genalex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6: 288–295.
- Pérez A, González M, Lenfant P, Concepción M, García JA. 2006. Effects of fishing protection on the genetic structure of fish populations. *Biol. Conserv.* 29: 244–255.
- Pérez R, Duran S, Estoup A, Turon X. 2006. Polymorphic microsatellite loci isolated from the Atlanto-Mediterranean colonial ascidian *Pycnoclavella* sp. (Ascidacea, Tunicata). *Mol. Ecol. Notes* 6: 516–520.
- Pruett CL, Saillant E, Gold JR. 2005. Historical population demography of red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the northern Gulf of Mexico based on analysis of sequences of mitochondrial DNA. *Mar. Biol.* 147: 593–602.
- Raymond M, Rousset F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280–1283.
- Raymond M, Rousset F. 2003. Genepop 3.4, an updated version of genepop 1.2 (1995): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86: 248–249.
- Rice WR. 1989. Analyzing tables of statistical test. *Evolution* 43: 223–225.
- Rocha-Olivares A, Sandoval-Castillo JR. 2003. Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Cienc. Mar.* 29: 197–209.
- Rocha-Olivares A, Bobadilla-Jiménez M, Ortega-García S, Saavedra-Sotelo S, Sandoval-Castillo JR. 2006. Mitochondrial variability of dolphinfish *Coryphaena hippurus* populations in the Pacific Ocean. *Cienc. Mar.* 32: 569–578.
- Rodríguez DY. 2004. Divergencia morfológica de las especies demersales pargo ceibal (*Lutjanus analis*) y pargo rayado (*Lutjanus synagris*) (Pisces, Lutjanidae) del área norte del Caribe Colombiano. M.Sc. thesis, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 116 pp.
- Rowe S, Hutchings JA. 2003. Mating systems and the conservation of commercially exploited marine fish. *Trends Ecol. Evol.* 18: 567–573.
- Saillant E, Gold JR. 2006. Population structure and variance effective size of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in the northern Gulf of Mexico. *Fish. Bull.* 104: 136–148.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning: A laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sato M, Kawamata K, Zaslavskaya N, Nakamura A, Ohta T, Nishikiori T, Brykov V, Nagashima K. 2005. Development of microsatellite markers for Japanese scallop (*Mizuhopecten yessoensis*) and their application to a population genetic study. *Mar. Biotechnol.* 7: 713–728.
- Shaw P, Pierce G, Boyle P. 1999. Subtle population structuring within a highly vagile marine invertebrate, the veined squid *Loligo forbesi*, demonstrated with microsatellite DNA markers. *Mol. Ecol.* 8: 407–417.
- Shinde D, Lai SF, Arnheim N. 2003. Taq DNA polymerase slippage mutation rates measured by PCR and quasi-likelihood analysis: (CA/GT)(n) and (A/T)(n) microsatellites. *Nucleic Acids Res.* 31: 974–980.
- Smouse PE, Long JC, Sokal RR. 1986. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Syst. Zool.* 35: 627–632.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1995. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd ed. WH Freeman and Co., New York, 887 pp.

- Takagi M, Chow S, Okamura T, Scholey V, Nakazawa A, Margules D, Wexler J, Taniguchi N. 2003. Mendelian inheritance and variation of four microsatellite DNA markers in the yellowfin tuna *Thunnus albacares*. *Fish. Sci.* 69: 1306–1308.
- Tello-Cetina JA, Rodríguez-Gil LA, Rodríguez-Romero FR. 2005. Population genetics of the pink snail *Strombus gigas* in the Yucatan Peninsula: Implications for its management and fishery. *Cienc. Mar.* 31: 379–386.
- Viaña JE, Medina JA, Barros ME, Manjarrés LM, Altamar J, Solano M. 2004. Evaluación de la ictiofauna demersal extraída por la pesquería industrial de arrastre en el área norte del Caribe Colombiano (enero/2000–junio/2001). In: Manjarrés LM (ed.), *Pesquerías Demersales del Área Norte del Mar Caribe de Colombia y Parámetros Biológico-pesqueros y Poblacionales del Recurso Pargo*. Universidad de Magdalena, Santa Marta, Colombia, pp. 115–151.
- Wahlund S. 1928. Composition of populations from the perspective of the theory of heredity. *Hereditas* 11: 65–106.
- Wattier R, Engel CR, Saumitou P, Valero M. 1998. Short allele dominance as a source of heterozygote deficiency at microsatellite loci: Experimental evidence at the dinucleotide locus *gvlct* in *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta). *Mol. Ecol.* 7: 1569–1573.
- Recibido en marzo de 2007;*
aceptado en septiembre de 2009.