

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE  
MEXICO

EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA  
POBLACIONAL EN EL ATÚN ALETA  
AMARILLA (*Thunnus albacares*) DEL PACÍFICO  
NORORIENTAL MEXICANO MEDIANTE  
RAPD'S

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
BIOLOGO

Presenta

EVANGELINA CASTILLO OLGUÍN

BAJO LA DIRECCIÓN DEL:

Dr. PÍNDARO DÍAZ JAIMES



IZTACALA

MÉXICO, D.F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

FEBRERO 2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



U.N.A.M. CAMPUS

RECIBO  
BIBLIOTECA

## AGRADECIMIENTOS

IZT.

A Dios por la vida y por todo lo que en ella me ha dado ...

Mis más sinceros agradecimientos al Dr. Píndaro Díaz Jaimes por la aportación de elementos relevantes para mi formación académica, por la paciencia y por el gran apoyo brindado que permitieron la realización de este trabajo.

Agradezco también al Dr. Manuel Uribe Alcocer por su preocupación en mi desarrollo académico y por el apoyo brindado a lo largo de este.

A cada uno de los revisores: Dra. Martha Martínez, M. en C. Sergio Chazaro, M. en C. Elias Piedra y M. en C. Alba Márquez por el tiempo dedicado y cada una de sus aportaciones que permitieron la buena culminación de este trabajo.

Agradezco a las Autoridades Intituto de Ciencias del Mar y Limnología por el apoyo brindado; así mismo a Pescados Industrializados S.A., por las facilidades en la obtención de las muestras.

De manera muy especial agradezco a mis padres por su gran amor, por el apoyo ilimitado e incondicional, por sus desvelos y preocupaciones, y por haberme dado la oportunidad de valerme por mi misma; extendiendo este agradecimiento a mi hermano por su amor, ayuda y comprensión.

A Edson por el apoyo que me brindo durante todo este tiempo y de la misma forma a su familia por su ayuda desinteresada.

Y a mis familiares, amigos y compañeros de laboratorio, por su afecto y ayuda prestada.

A todos los aquí mencionados y a los que no fueron mencionados pero que estuvieron siempre brindando su apoyo moral... Gracias.

## INDICE

• Resumen.....	V
• Introducción.....	1
• Antecedentes.....	8
➤ El Atún Aleta Amarilla .....	8
➤ Diagnósis de la especie.....	8
➤ Ciclo de vida.....	9
➤ Distribución, abundancia y migración.....	10
➤ Descripción de la pesquería del atún aleta amarilla.....	12
➤ Estudios sobre estructura genética poblacional.....	15
➤ Técnica de PCR.....	18
• Hipótesis.....	20
• Objetivos.....	20
• Métodos.....	21
➤ Obtención de material biológico.....	21
➤ Extracción de DNA.....	23
➤ Cuantificación de DNA.....	24
➤ Electroforesis.....	26
➤ Análisis de Datos.....	27
• Resultados.....	31
• Discusión.....	45
➤ Variación genética.....	45
➤ Subdivisión poblacional.....	48
➤ Distancia genética.....	50
• Conclusiones.....	52
• Referencias.....	53

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Producción Nacional Pesquera por litoral de 1986 a 1998.....	1
<b>Figura 2.</b> Producción de peso vivo en toneladas de las pesquerías nacionales más importantes.....	2
<b>Figura 3.</b> Atún aleta amarilla ( <i>Thunnus albacares</i> ).....	9
<b>Figura 4.</b> Distribución del atún aleta amarilla acuerdo a las capturas en el Pacífico Oriental de 1981 a 1996.....	11
<b>Figura 5.</b> Capturas Mundiales de las principales especies de atunes en 1996.....	13
<b>Figura 6.</b> Serie Histórica Nacional de la Producción de Túnidos de 1988 a 1999.....	14
<b>Tabla 1.</b> Producción Nacional de atún de 1996 a 2000.....	14
<b>Figura 7.</b> Ciclo de la técnica de PCR.....	19
<b>Figura 8.</b> Mapa de la ubicación geográfica de las muestras de Atún Aleta Amarilla.....	22
<b>Tabla 2.</b> Ubicación geográfica y año de colecta, de las muestras de atún aleta amarilla del Pacífico Nororiental.....	23
<b>Figura 9.</b> Patrón de bandeo del primer OPF-13.....	31
<b>Figura 10.</b> Patrón de bandeo del primer OPA-13.....	32
<b>Tabla 3.</b> Secuencias de los "Primers" utilizados y número de fragmentos amplificados.....	32
<b>Tabla 4.</b> Estimación de las frecuencias alélicas para los 40 loci detectados.....	33
<b>Tabla 5.</b> Valores de heterocigosis esperada total para cada loci.....	36
<b>Tabla 6.</b> Valores de probabilidad de significancia de la homogeneidad de frecuencias alélicas entre pares de muestras.....	37
<b>Tabla 7.</b> Estimaciones subdivisión poblacional $\theta$ y $G_{ST}$ .....	38
<b>Tabla 8.</b> Valores de $\theta$ entre pares de muestras y valores de significancia.....	40
<b>Tabla 9.</b> Distancia genética y valores de similitud entre las 12 muestras analizadas.....	41
<b>Figura 12.</b> Dendrograma obtenido mediante UPGMA. ....	43
<b>Figura 13.</b> Dendrograma obtenido mediante Neighbor-joinig.....	44

## RESUMEN

Los atunes son un recurso pesquero de gran importancia para nuestro país, ya que se ubica entre los primeros tres lugares de especies marinas por sus volúmenes de pesca, tiene el primer lugar en captura de peces pelágicos y son de los organismos que presentan un valor comercial muy alto además de representar una fuente importante de alimentación. De las especies de atunes que son capturadas, el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) es de los más importantes. De acuerdo a la distribución de estos organismos en el Pacífico Oriental y de los factores oceanográficos de la zona, se sugiere un posible aislamiento por distancia, que puede originar una estructura genética poblacional en estos organismos.

Por tal motivo el estudio genético del presente trabajo consistió en la estimación de diversidad genética, y la evaluación de la presencia de estructura genética poblacional de 12 muestras de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico Nororiental divididas en tres tipos de localidades por su ubicación de captura. Las estimaciones se realizaron a través del análisis de la variación electroforética de DNA mediante la técnica conocida como amplificación aleatoria de DNA polimórfico (RAPD's), la cual consiste en amplificar fragmentos aleatorios de DNA los cuales se ha reportado que presentan un alto grado de polimorfismo. A partir de la variación electroforética encontrada, los fragmentos se utilizaron para la obtención de frecuencias alélicas y así estimar la diversidad genética, la divergencia poblacional y realizar los estadísticos descriptivos correspondientes.

Los resultados mostraron una variación genética de  $H = 0.3686$ , mayor a la reportada en otras especies de peces pelágicos, pero coincidente con los reportes de RAPD's para atún aleta amarilla. Se observó también una gran coincidencia de muestras que presentan mayor heterogeneidad en sus frecuencias alélicas y aquellas que presentan las estimaciones más altas de subdivisión poblacional, así como las que presentan mayor distancia genética, por lo que se sugiere que existen diferencias entre muestras cercanas de forma latitudinal que son costeras y entre muestras costeras y alejadas de la costa, separadas longitudinalmente.

## INTRODUCCIÓN

México cuenta con pesquerías de gran importancia, presentando volúmenes de captura que nos ubican en el país número 20 en producción pesquera. De ambos litorales mexicanos, el más importante en producción es el Pacífico, con aproximadamente el 75 % de la captura total del país (Figura 1). Rodríguez-Cruz (1988), ha señalado que lo anterior se debe a las condiciones oceanográficas del Pacífico Oriental, donde la convergencia de las corrientes de California y Ecuatorial originan la formación de la Contracorriente Ecuatorial que genera zonas de alta productividad, por la aportación de nutrientes y la renovación de aguas de la zona.

Producción Pesquera por litoral de 1987 a 1998

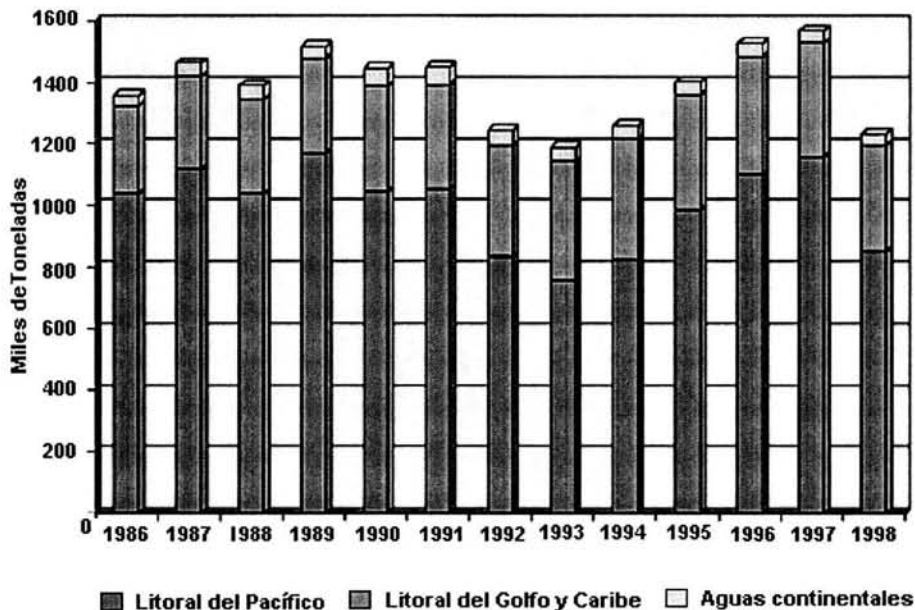
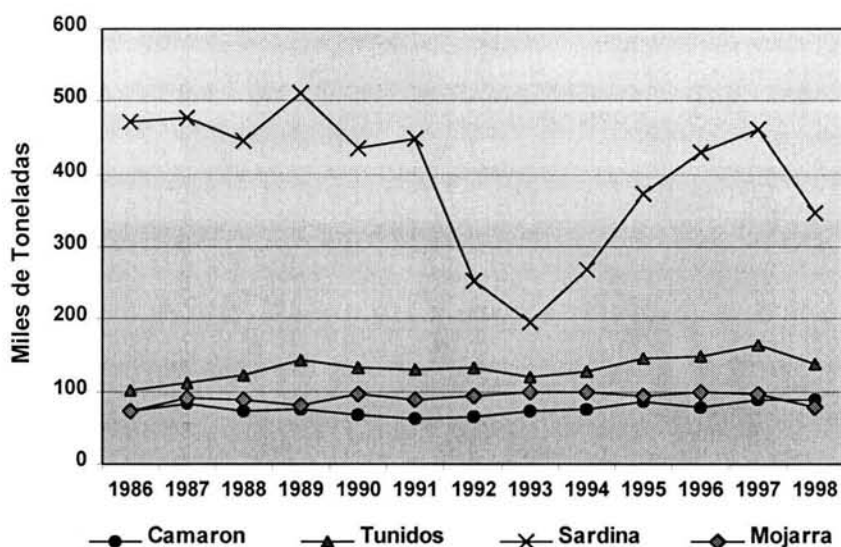


Figura 1. Producción Nacional Pesquera por litoral, incluyendo acuicultura, de los años 1986 a 1998. (Tomado de Estadísticas de Semarnap)



En el país existe un gran número de pesquerías dentro de las que destacan por su volumen de captura, la del camarón, el atún, la sardina y la mojarra (Figura 2) y las más importantes por su valor comercial son el camarón, el atún y la anchoveta. (datos estadísticos de SEMARNAP, <http://www.semarnap.gob.mx>)

**Producción de las principales pesquerías, de México 1986-1998**



**Figura 2.** Producción de peso vivo en toneladas. Estas pesquerías representan conjuntamente más del 40 por ciento del total de la producción de cada año (y al menos 50% en nueve años del periodo considerado). Tomado de Semarnap, Anuario estadístico de pesca, años 1997 y 1998, México.

El atún es considerado un recurso sumamente valioso en la industria pesquera principalmente en los países que cuentan con regiones oceánicas favorables, ya que su volumen de captura es de los más elevados entre los peces pelágicos explotados, y revisten gran valor comercial. Por ello el estudio de este recurso en nuestro país es de gran relevancia.

El atún aleta amarilla es un organismo pelágico de la familia de los escómbridos, y uno de los representantes de mayor tamaño. Su distribución latitudinal es cosmopolita; con presencia en aguas tropicales y subtropicales, principalmente en los Océanos Atlántico, Índico y Pacífico; existen factores como la temperatura y la disponibilidad de alimento que determinan su ubicación longitudinal. En cuanto a su distribución a lo largo de la columna de agua, suelen encontrarse con mayor frecuencia cerca de la parte inferior de la termoclina en los adultos, mientras que los juveniles generalmente se mantienen en la parte superior de esta (Collete y Nauen, 1983). Los atunes, se caracterizan por presentar gran capacidad de dispersión, sin embargo sus movimientos en el Pacífico Oriental son limitados (Joseph *et al.*, 1964), sugiriendo la presencia de 4 grupos discretos: uno en la parte Norte del Pacífico, en el Golfo de California, alrededor de la islas Revillagigedo y un último comprendiendo desde las Islas Marías hasta Chile (Fink y Bayliff, 1970). Las características oceanográficas causadas por la zona de convergencia de corrientes en el Pacífico Oriental (Corriente de California, Corriente Ecuatorial y Contracorriente Ecuatorial) y la capacidad de dispersión de los atunes ha hecho suponer la mezcla limitada entre estos grupos, como ha sido reportado por Schaefer *et al.*, (1961).

La agrupación de los organismos en estas especies que generalmente ocurre por cohortes (Punsly y Deriso, 1991), representa otro factor que podría contribuir a la diferenciación de las poblaciones que se encuentran sujetas a explotación. Esto debido a que puede representar una presión de pesca selectiva sobre los juveniles que por encontrarse más cercanos a la superficie los hace más vulnerables a la captura, lo que puede ocasionar que los genotipos de una determinada edad representada por esas cohortes, no contribuya a la diversidad genética de la población, incrementando así las posibilidades de diferenciación bajo la presencia de alguna barrera geográfica (Avisé *et al.*, 1987).

La explotación tanto del atún como de cualquier otro recurso pesquero debe realizarse bajo normas de administración adecuadas que permitan su sustentabilidad por lo que resulta necesario la definición de conocimientos básicos de sus poblaciones como son la tasa de crecimiento, y la mortalidad entre otros, así como aspectos reproductivos con el fin de mantener el rendimiento máximo sostenible (RMS); La ausencia de estas normas de administración pueden generar un deterioro gradual de las poblaciones y disminuir el rendimiento del recurso conduciéndolo en ocasiones hasta el colapso, con las repercusiones respectivas en el aspecto económico (Ayala y Kiger, 1989; FAO/PNUMA, 1984).

En relación a lo anterior, determinar la presencia de estructura en las poblaciones que son explotadas, es un elemento que puede contribuir a la administración del recurso mediante la definición con criterios genéticos de poblaciones discretas y diferenciadas genéticamente que puedan ser consideradas como unidades de pesca. Este tipo de criterios suelen ser más objetivos en relación con los aspectos morfométricos que pueden estar sujetos a la influencia de factores ambientales. Por su parte los aspectos que se desprenden de los datos de captura, suelen depender de la abundancia temporal y del esfuerzo de pesca.

Debido a que las subpoblaciones pueden caracterizarse por presentar elementos genéticos particulares en cuanto a su variabilidad que comprende las diferentes formas genéticas que integran a la población o conjunto de estas, la utilización de criterios genéticos puede aportar elementos relevantes para lograr una administración más efectiva.

La variación genética proporciona a las poblaciones la capacidad de lograr un mayor potencial de adaptación que puede ser útil bajo determinadas circunstancias, como en el caso de fluctuaciones importantes del ambiente (Dobzhansky *et al.*, 1993; Hedrick, 2000). Por tal motivo, su conservación en las poblaciones explotadas es un aspecto importante.

La variación genética en las poblaciones, puede ser resultado de diferentes procesos tales como mutaciones, recombinación y flujo génico, este último a su vez relacionado con la migración. Igualmente la selección natural suele ser un factor que define la variación genética actuando de manera directa sobre determinados genes y alelos modificando su frecuencia. Lo relevante de estos procesos además de originar la diversidad, es su contribución a procesos evolutivos y adaptativos, que generalmente van acompañados de cambios en las frecuencias génicas entre las poblaciones, de tal forma que al ser estudiados permiten estimar las modificaciones existentes dentro y entre poblaciones y mediante ello evaluar la magnitud y el tiempo de divergencia entre éstas (Mettler y Gregg, 1982; Dobzhansky *et al.*, 1993; Hartl y Clark, 1989).

Así como existen procesos por los cuales se genera variación genética, también encontramos procesos que actúan en algunos casos de forma contraria, como la deriva génica, que resulta de procesos fortuitos que originan cambios en las frecuencias génicas de una población, mediante la fijación a largo plazo de un determinado alelo y la pérdida de otro después de un proceso de aislamiento significativo. Este proceso de pérdida y fijación de alelos ocurre frecuentemente asociado a tamaños pequeños de las poblaciones y/o de interrupción del flujo

genético, pues bajo estas condiciones es mucho más factible la fijación de un alelo en pocas generaciones (Mettler y Gregg, 1982; Dobzhansky *et al.*, 1993; Díaz-Jaimes, 1999; Hedrick, 2000; Hartl y Clark, 1989). Otro proceso que reduce de manera drástica la variación genética es la endogamia, esta resulta de un exceso de homocigocidad en la población originada por la consanguinidad de los progenitores. Se ha establecido que uno de los factores determinantes en este proceso es nuevamente el tamaño de la población, ya que si este es excesivamente pequeño su efecto puede conducir al apareamiento no aleatorio de los organismos y con esto generar alteraciones en la estructura genética de las poblaciones y que en casos drásticos llevan a la extinción de las mismas.

La captura de un recurso puede también contribuir a la pérdida de variación genética pues existe la posibilidad de disminuir el tamaño efectivo de la población, al ejercer una presión de pesca excesiva que actuaría de forma selectiva sobre un sector específico de la población. Criterios como la talla, la edad, o el sexo que usualmente son considerados para la administración, en ocasiones no resultan ser los más efectivos, ya que si se realiza la captura de organismos con base en una talla determinada, se puede estar disminuyendo la abundancia de ciertas edades y al mismo tiempo las tallas que están relacionadas con aspectos como la proporción de sexos, causarían un empobrecimiento temporal de la próxima generación. Esta presión selectiva de pesca puede ocurrir sobre determinados genotipos que no necesariamente serán reemplazados por el reclutamiento de individuos a la siguiente generación, lo que puede disminuir en un momento dado la variación total de la población (Ayala y Kiger, 1989), y con esto alterar las características tanto genéticas como demográficas de la misma (Smith, 1994).

Las diferencias genéticas que se llegan a presentar en las poblaciones reflejadas por los cambios en las frecuencias génicas, pueden ser originadas por aspectos tales como pérdida de variación genética como ya se explicó anteriormente; otro de los aspectos que puede contribuir a esto, es la distancia geográfica existente entre las poblaciones, lo que se le conoce como "aislamiento por distancia" (Slatkin, 1993) el cual sugiere que entre mayor distancia geográfica hay entre las poblaciones existirá una mayor diferenciación de las mismas, siendo esto otra de las causas que permiten la aparición de estructura genética poblacional.

El conocimiento de la estructura genética poblacional de los recursos en explotación, permitirá que cada subpoblación sea considerada como unidad independiente de pesca y así su administración se realice de acuerdo a características propias en el establecimiento de cuotas de captura.

La realización de estudios con objetivo de conocer la estructura genética de las poblaciones sujetas a explotación como el atún aleta amarilla, van encaminados a definir unidades de pesca independientes y esto se logra a través de la estimación de su variación genética y la forma en que esta se distribuye en sus poblaciones. Esta puede ser cuantificada como variantes alélicas, haplotipos o diferencia de nucleótidos dependiendo del marcador utilizado, realizando un conteo o estimación de las frecuencias génicas que da una muestra aleatoria del acervo genético total de la población.

A partir de los años 60's con el desarrollo de técnicas bioquímicas surge la posibilidad de estudiar la variación por medio de la electroforesis de proteínas y de enzimas (Lewontin y Hubby, 1966; Harris, 1966). El estudio de la variabilidad genética mediante isoenzimas, ha hecho posible estimar la estructura genética en poblaciones de peces (Shaklee *et al.*, 1983; Elliot y Ward, 1995; Ward *et al.*, 1997); el análisis de la variabilidad estimada mediante esta técnica se realiza con base en las diferencias de la movilidad electroforética de las proteínas y de acuerdo a esta, la determinación de la presencia de uno o más loci polimórficos para la codificación de una enzima; y de la condición homocigótica o heterocigota de los genotipos individuales (Shaw, 1965; Shaklee *et al.*, 1982; Richardson, 1983; Hartl, 1988).

Recientemente se ha propuesto el estudio de la variación genética en las poblaciones con la utilización de técnicas que involucran la manipulación del DNA, (ácido desoxirribonucleico, ADN) ya que este permite estimar los niveles de diversidad genética en las poblaciones de manera más efectiva (Awise *et al.*, 1987; Awise, 1994) debido a la menor influencia de factores selectivos que la observada en las isoenzimas (Powers *et al.*, 1991; LeCorre *et al.*, 1997). De ahí que la aplicación de protocolos que utilizan mtDNA (ADN mitocondrial), como el análisis de Fragmentos de Restricción Polimórficos de DNA (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP's) han sido usados ampliamente para evaluar la variación genética entre especies y mediante ello determinar la estructura genética en poblaciones de especies marinas (Bouchon *et al.*, 1994; Karl *et al.*, 1992). Las técnicas que utilizan DNA genómico como la Amplificación de Fragmentos Polimórficos de DNA al Azar (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD's), han demostrado que puede ser un marcador genético valioso, por la posibilidad de obtener una gran cantidad de polimorfismo que permite estimar niveles de diferenciación genética entre poblaciones. Tal es el caso de Smith *et al.* (1997) quienes utilizaron la técnica de RAPD's para definir la estructura poblacional de *Holoplostethus atlanticus*; Aubert y Lighthner (2000) identificaron estructura poblacional en el camarón azul del pacífico mediante RAPD's y Todd *et al.* (1997) evaluaron la

estructura poblacional en copepodos marinos, encontrando una alta diferenciación en pequeña escala temporal y espacial.

Esta técnica también se ha usado para la identificación de diferentes especies de peces (Dinesh *et al.*, 1993). De la misma forma Bardakci y Skibinski (1994) la emplearon para identificar subpoblaciones de tilapia y García y Benzie (1995), determinaron diferencias en poblaciones de camarón con el fin de aplicar la información a programas de reproducción. Actualmente existen otros marcadores moleculares de gran resolución como es el caso de la Repetición de Numero Variable en Tandem (Variable Number of Tanbem Repeats, VNTR's) en los que se incluyen a los minisatelites y microsatelites, los cuales han mostrado también su efectividad en estimaciones de diversidad genética, y estructura poblacional (Galvin *et al.*, 1995; Wolfus *et al.*, 1997; Heist y Gold, 2000). A partir de todas estas técnicas, es posible la obtención de marcadores genéticos que en un nivel poblacional, permitan identificar diferencias resultantes de divergencia (Silva y Russo, 2000).

La técnica de Amplificación de fragmentos polimórficos aleatorios de DNA (RAPD's) que es la utilizada en el presente trabajo ha sido descrita por Williams *et al.* (1990) y por Welsh y McClalland (1990), quienes basados en la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR) y utilizando una sola secuencia de nucleótidos de 20 a 10 pares de bases como secuencia de inicio ("primers"), lograron amplificar fragmentos aleatorios de DNA genómico con polimorfismo suficiente para definir diferencias a nivel poblacional. De esta forma los RAPD's permiten detectar polimorfismo en una buena parte del genoma de los organismos a diferencia del resto de los marcadores descritos que solo se limitan al polimorfismo existente en una región específica; Por ello los RAPD's tienen la oportunidad de detectar altos niveles de variación que permiten el estudio de diferenciación a nivel poblacional.

## ANTECEDENTES

### El Atún Aleta Amarilla

El atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*, Bonnaterre, 1788), pertenece a la familia de los Scómbridos, misma que ha sido subdividida en dos subfamilias: Gasterochismatinae y Scombrinae (Collete y Nauen, 1983). Esta última está conformada por 15 géneros y 49 especies de peces oceánicos epipelágicos. La ubicación taxonómica del organismo en estudio es la siguiente (Collete y Naven, 1983).

Phylum: Chordata

Subfilum: Vertebrata

Superclase: Gnathostomata

Clase: Teleostomi

Subclase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Suborden: Scombroidei

Familia: Scombridae

Subfamilia: Scombrinae

Tribu: Thunnini

Genero: *Thunnus*

Especie: *Thunnus albacares*

### Diagnosis de la Especie

El atún aleta amarilla es un pez pelágico de distribución cosmopolita, cuenta con 11 a 14 espinas dorsales, 12 a 16 espinas ventrales, carece de espinas anales, con 16 radios anales, y posee 39 vértebras: 18 precaudales y 21 caudales. Se observan de 26 a 35 dentrículos en el primer arco branquial. Son peces caracterizados por tener muy largas la segunda aleta dorsal y la aleta anal, que alcanzan hasta un 22 a 32% de su longitud total (en individuos de 110 a 149 cm). Sus aletas pectorales son moderadamente largas, anchas y redondeadas, y generalmente se encuentran por delante del origen de la aleta dorsal; las puntas de las aletas tienden a ser amarillas, tiene vejiga natatoria, cuerpo es fusiforme, con ojos pequeños y coloración de negro a azul metálico en la parte dorsal y blanco plateado en la parte ventral, posee marcas laterales prominentes en el cuerpo que se caracterizan por ser rayas continuas y puntos que se extienden por debajo de las aletas pectorales a la región del pedúnculo caudal. Su talla se ubica dentro de un rango de 150 a 200 cm, con un peso de 150 a 170 Kg. La talla máxima registrada corresponde a un individuo de 208 cm con 176 Kg, capturado en la Costa Occidental de México en 1977. La edad máxima registrada es de 8 a 9 años (Schaefer, 1999; Collete y Naven, 1983, Suzuki, 1994) (Figura 3).

Su alimentación generalmente consiste de peces pequeños en un gran porcentaje, de crustáceos y de calamares (Collete y Nauen, 1983). La forma hidrodinámica de su cuerpo le permite desplazarse con gran rapidez, existiendo registros de velocidades de mas de 43 Km/hr (Zim, 1978).

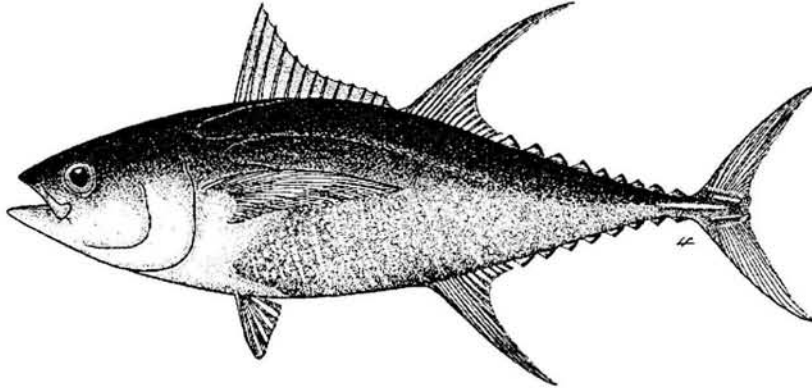


Figura 3. Atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*; Lindberg's, 1971)

Su reproducción es ovípara con fecundación externa, se han reportado tallas mínimas de madurez por debajo de los 120 cm de aproximadamente 2 a 3 años de edad en regiones oceánicas (Suzuki *et al.*, 1978; Ueyanagi, 1966).

### Ciclo de vida

La madurez sexual del atún ha sido registrada en hembras de un año de edad con aproximadamente 60 cm en la zona de Filipinas y de América Central (Davidoff, 1963; citado por Collete y Nauen, 1983), pero el porcentaje promedio de madurez va de los 70 a 100 cm completándose la madurez en organismos de 120 cm. Schaefer (1998) reporta la longitud mínima de madurez sexual en hembras de 59 cm y en machos de 50 cm y una proporción sexual de 1:1, la fecundidad promedio reportada y estimada por conteo de ovocitos, es de 2,5 millones. Ishii (1968) determinó el coeficiente de mortalidad natural de 0.9, utilizando un modelo de reclutamiento secuencial.

El desove se presenta de Abril a Septiembre, aunque hay zonas en las que ha sido detectado todo el año (Schaefer, 1998), como en la región Occidental del Pacífico a la que se refieren Suzuki *et al.* (1978). En el Pacífico Oriental, González y Ramírez (1989) reportan que la mayor cantidad de zonas de desove, se encuentran entorno a las islas Revillagigedo y las Clipperton, así como en la boca del Golfo de California y en el Golfo de Tehuantepec; además de encontrar que las épocas de reproducción en estas zonas, son de marzo a noviembre con la mayor actividad de abril a mayo y de



octubre a noviembre con hembras reproductivas a partir de 70 cm de longitud (Rodríguez-Cruz, 1988).

### **Distribución, abundancia y migración**

En etapas tempranas, las larvas del atún aleta amarilla con tamaño aproximado de 3 a 10 mm, presentan una distribución limitada latitudinalmente a aguas tropicales o subtropicales con mayor abundancia en zonas cercanas al Ecuador (Wild, 1994a). Ueyanagi (1969), Matsumoto (1958) y Stranburg (1960), indican que la distribución vertical de las larvas de atún aleta amarilla está restringida a una profundidad de 50 a 60 metros y dentro de un rango de temperatura de 24 a 26° C, generalmente ubicándose por arriba de la termoclina. Richards y Simmons (1971) han reportado movimiento de las larvas de atún aleta amarilla a la superficie durante el día en comparación con las del atún barrilete que migra a la superficie durante la noche.

En la etapa adulta, el atún aleta amarilla tiene una distribución cosmopolita, en aguas tropicales y subtropicales de los Océanos Atlántico, Indico y Pacífico por lo que las latitudes a las que se puede encontrar son de los 45° N a 45° S, y en temperaturas oscilando entre 15 a 31° C. A lo largo de la columna de agua se les encuentran en los límites de la capa de mezcla, entre los 50-90 metros, aunque su distribución vertical puede variar de la superficie a los 200 mts de profundidad, en función de la profundidad de la termoclina, ubicándose en ocasiones por arriba o por debajo de esta. En el Pacífico Oriental se ha reportado que de acuerdo con los datos de captura la distribución del atún aleta amarilla se ubica entre los 30° de latitud Norte y 15° latitud Sur (Figura 4).

Los niveles de concentración de oxígeno y las fluctuaciones de temperatura por debajo de la termoclina es otro de los factores limitantes dentro de su distribución a lo largo de la columna (Collete y Nauen, 1983).

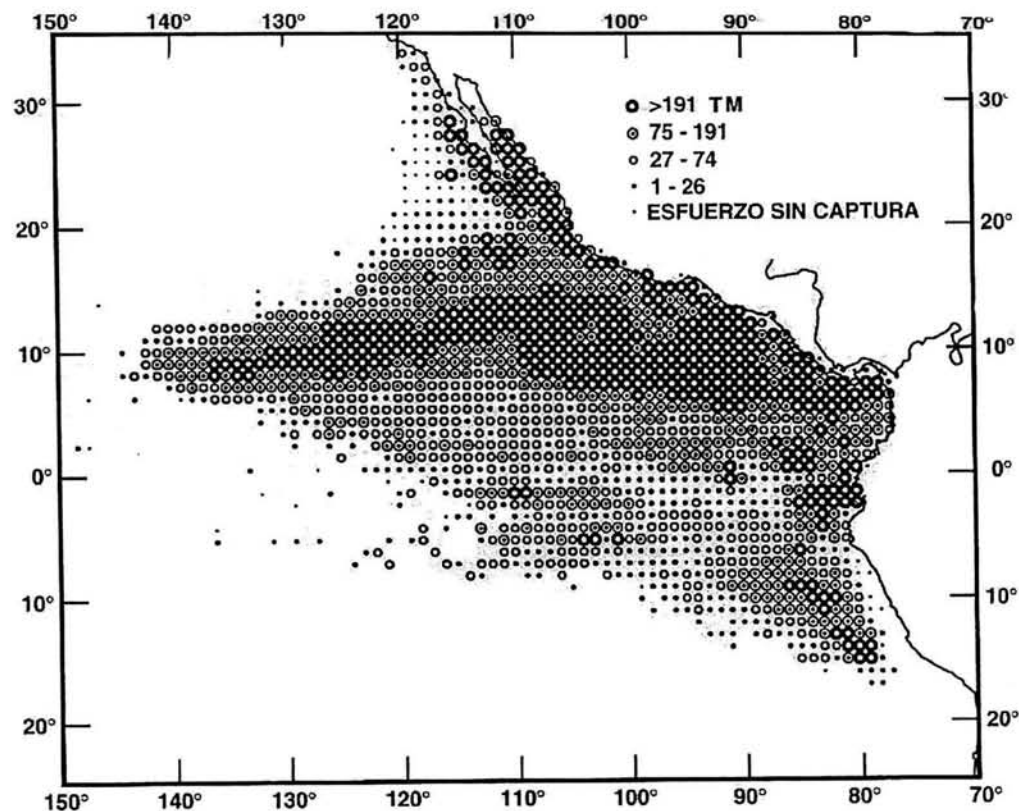


Figura 4. Distribución del atún aleta amarilla acuerdo a las capturas medias anuales en el Pacífico Oriental de 1981 a 1996. Tomado de anuario IATTC 1997 (1999)

En el Pacífico Oriental, las poblaciones de atún aleta amarilla desde Perú hasta California realizan migraciones a lo largo de la costa. Aparentemente estos movimientos se encuentran asociados con aspectos oceanográficos estacionales como son las isotermas del norte (Joseph *et al.*, 1964). Informes de sus migraciones indican que el atún del Pacífico Oriental no se mezcla por completo (Joseph *et al.*, 1964; Schaefer, 1992), y que sus migraciones tienen una relación con los sitios de desove y/o con fines alimenticios, con movimientos hacia el norte en el verano y al Sur en el otoño (Blackburn, 1969; citado por Rodríguez-Cruz, 1988). Por otra parte en el Pacífico Oriental, existe evidencia de estudios de marcaje y recaptura, que señalan la presencia de grupos discretos con movilidad limitada y poco intercambio entre estos; uno en la costa occidental de Baja California, otros dos en el Golfo de California y alrededor de la Islas Revillagigedo y uno mas que corresponde de las Islas Marías hasta el norte de Chile (Fink y Bayliff, 1970). De acuerdo a otros estudios similares, las migraciones del atún aleta amarilla no son tan amplias por ejemplo: Sharp (1983) encuentra que no recorren más allá de 50 millas a la redonda; por lo que se puede pensar que las migraciones están asociadas a procesos reproductivos en zonas

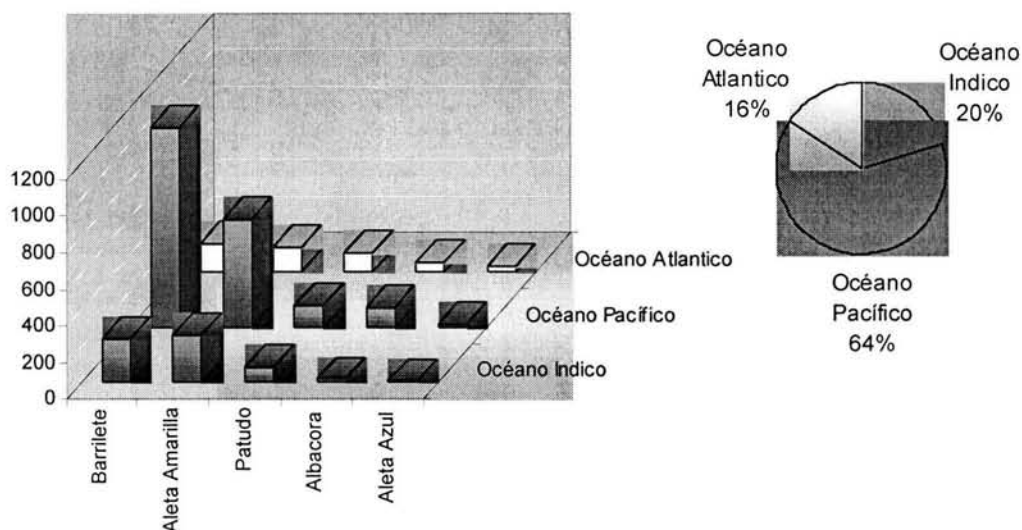
específicas de desove en las que se concentran organismos que habitan en sitios relativamente cercanos. No obstante existen reportes de que la distribución y abundancia de larvas es continua a lo largo de todo el Pacífico con zonas que presentan variaciones significativas (Wild, 1994a).

### **Descripción de la pesquería del atún aleta amarilla**

Existe un gran número de trabajos sobre las pesquerías de los atunes en el Pacífico Oriental, y sobre su abundancia, variación geográfica y distribución en las zonas más productivas (Punsly y Deriso, 1991; Schaefer, 1992; Tomlinston *et al.*, 1992; Will, 1994b).

Ortega-García y Lluch (1996) estudiaron la abundancia del atún aleta amarilla en aguas de la parte Sur del Pacífico Mexicano, encontrando una correlación con la concentración de pigmentos fotosintéticos y señalando un desplazamiento estacional de aproximadamente 3 a 5 meses durante 1984 y 1986, concluyendo que existe una relación de la distribución del atún y la coloración de las aguas superficiales del océano.

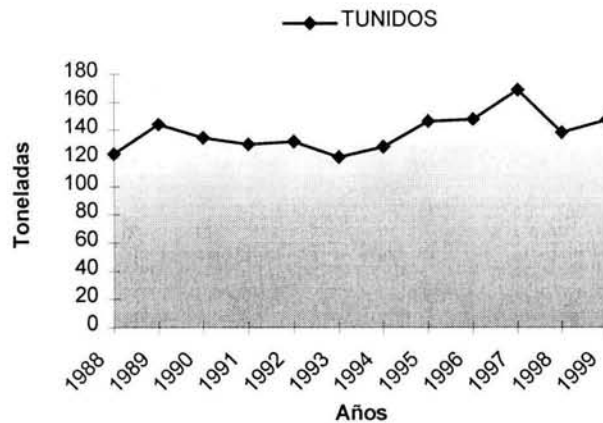
Los atunes son un recurso de gran importancia a nivel mundial, con el 64% de las capturas de atún provenientes del Océano Pacífico (Figura 5). Las especies con mayor volumen de captura son el Barrilete (*Katsuwonus pelamis*) seguido por el Atún Aleta Amarilla (*Thunnus albacares*) que alcanza un valor comercial más alto debido a que su carne es muy preciada. Este recurso se encuentra ampliamente distribuido en los Océanos Atlántico, Índico y Pacífico, con reportes de los volúmenes totales de captura del 28%, 41%, y 32.6% en promedio, en cada una de estas cuencas oceánicas. El atún aleta amarilla es la segunda especie de túnidos de importancia por su explotación a nivel mundial con 986 mil toneladas métricas (TM), en 1996, teniendo el mayor volumen de captura en el Océano Pacífico, representado con el 32.65% (Figura 5).



**Figura 5.** Capturas Mundiales de las principales especies comerciales de atunes en 1996. Datos en toneladas métricas (TM), obtenidos de las estadísticas de la FAO (Inter-American Tropical Tuna Commission Annual Report, 1997).

México cuenta con una intensa actividad pesquera de atún, principalmente en la vertiente del Pacífico, donde la captura alcanza valores de 116,632 a 140,064 (TM); mientras que en el Golfo de México son de 814 a 1,581 (TM). El atún ha sido capturado desde los 50's con una producción inicial de 35,380 (TM), cantidad que se fue incrementando hasta 1955 cuando descendió la producción debido a la disminución del número de embarcaciones, para aumentar nuevamente en los años 70's de 7,160 a 134,300 TM (Wild, 1994a). La explotación de atún en México ha sufrido cambios significativos en su producción a lo largo de su historia pesquera, pero es claro que en los últimos 14 años la captura ha mantenido niveles de producción constantes, de 160 mil toneladas a 117,579 toneladas como se observa en la Tabla 1 (Figura 6).

La captura del atún aleta amarilla en México representa del 32 al 34% de la producción total de túnidos en el Pacífico Oriental con valores de extracción de 121,888 y 123,580 TM en 1996 y 1997 respectivamente ocupando el primer lugar, y seguido de Venezuela con 63,183 y 60,009 TM para los mismos años (Datos tomados de I-ATTC, 1999, Reporte anual 1997).



**Figura 6.** Serie Histórica Nacional de la Producción de Túnidos de 1988 a 1999. (Datos tomados de estadísticas de Semarnap, 1999)

**Tabla 1.** Producción Nacional de atún de 1996 a 2000  
(Toneladas Métricas)

Años	Producción Total	Producción Del Pacífico Mexicano	Producción Del Golfo De México
1996	129,415	128,601	814
1997	140,960	140,064	896
1998	117,579	116,632	947
1999	123,642	122,061	1,581
De enero-octubre 2000	88,937	87,740	1,197

En México la explotación de este recurso ocupa un lugar importante, ubicándose a nivel nacional entre los primeros cinco lugares de producción (volumen desembarcado) y valor comercial. Los mayores niveles de explotación provienen del Pacífico donde se ubica la mayor parte de la flota atunera nacional, mientras que en el Golfo de México la captura de este recurso es notablemente menor debido al tipo de captura artesanal y a su menor abundancia. (Semarnap <http://www.semarnap.gob.mx> )

## Estudios sobre estructura y genética poblacional

Debido a la importancia pesquera de los túnidos, a su amplia distribución y a su carácter migratorio, se han realizado diversos tipos de estudios para determinar la estructura de sus poblaciones, basándose tanto en aspectos morfométricos como genéticos.

Schaefer (1989), mediante un análisis multivariado de mediciones morfométricas, informó de la presencia de dos grupos de atún aleta amarilla en el Pacífico Oriental, mencionando la posibilidad de que se encuentren delimitados por barreras oceanográficas al Norte y Sur de la franja latitudinal de los 15 a 20° Norte, zona donde ocurre la convergencia de corrientes oceánicas. Schaefer (1992) realizó un análisis multivariado de algunas características morfométricas y merísticas del atún aleta amarilla en cinco áreas del Pacífico y una del Atlántico, encontrando variaciones espacio-temporales que demuestran que los "stocks" de estas regiones son distinguibles y muestran su origen geográfico. Suzuki *et al.* (1978) por medio de estimaciones con base en diferencias de talla y estructura de edades de las capturas del Pacífico, determinó la presencia de tres "stocks", dos aparentemente independientes, el primero en la parte Norte, el segundo en la parte Sur y un último en la región Central, que puede resultar de una zona de mezcla entre los dos anteriores. Por su parte, Joseph *et al.* (1964) determinaron la estructura poblacional del atún aleta amarilla mediante técnicas de marcaje y recaptura a lo largo del Pacífico Oriental, encontrando que las recapturas muestran indicios de migraciones limitadas desde el Pacífico Oriental hacia la parte Occidental, sin poder delimitar poblaciones diferentes en esas áreas por no existir una interrupción en la captura del Pacífico Central y Oriental y por ello se cuestiona la presencia de aislamiento genético completo, entre las regiones Occidental y Oriental del Pacífico.

Los estudios genéticos realizados en diferentes especies de atunes han incluido el uso de diferentes técnicas que van desde la variación de proteínas hasta técnicas de secuenciación. Richardson (1983) utilizó las esterasas para determinar la estructura poblacional del atún barrilete (*Katsuwonus pelamis*) del Pacífico Central y Suroeste, encontrando que la variación en las frecuencias de los loci de la carboxil-esterasa y guanina-deaminasa, se da gradualmente de la parte Central hacia el Sur, aunque concluye que existe intercambio suficiente entre estos grupos para mantener la heterogeneidad, igualmente encontró una relación significativa entre la distancia y las frecuencias genéticas entre las poblaciones.

Graves *et al.* (1984) utilizaron el análisis de enzimas de restricción para conocer el grado de similitud genética entre las poblaciones del barrilete (*Katsuwonus*

*pelamis*) del Pacífico y del Atlántico, encontrando que existe un alto grado de similitud genética, sugiriendo que recientemente se ha dado un intercambio genético entre las poblaciones de ambos océanos. Chow y Ushiyama (1995), mediante el análisis de fragmentos de restricción del gen mitocondrial de la ATPasa, en poblaciones de albacora (*Thunnus alalunga*), reportaron que existe poca heterogeneidad entre las poblaciones de las regiones Norte y Sur del Pacífico, igual que entre las del Norte y Sur del Atlántico, sugiriendo la presencia de suficiente flujo génico dentro de ambos océanos como para concluir acerca de la presencia de una estructura genética poblaconal.

Dentro de los estudios de tipo genético realizados en atún aleta amarilla, Scoles y Graves (1993) analizaron la estructura poblaconal de cinco localidades del Pacífico y una del Atlántico mediante RFLP's, encontrando una variación considerable, aunque no permite detectar divergencia genética entre las poblaciones por lo que sugieren la presencia de flujo genético considerable tanto en poblaciones del Pacífico y de éstas con el Atlántico. Ward *et al.* (1994) realizaron un estudio en el Pacífico Oriental para determinar diferencias poblaconales del atún aleta amarilla mediante el análisis de isoenzimas y haplotipos de mtDNA sin encontrar evidencia de divergencia entre las muestras analizadas, no obstante encontraron evidencia de la presencia de dos "stocks" por medio de diferencias significativas en las frecuencias de la enzima Glucosa Fosfato Isomerasa (GPI-A\*). Mas tarde, Ward *et al.* (1997) estudiaron la estructura poblaconal del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) de manera más global en el Pacífico, e incluyendo muestras del Océano Indico, realizando otro análisis mediante aloenzimas y variación de haplotipos de mtDNA, confirmanro las diferencias significativas en la distribución de las frecuencias de la Glucosa Fosfato Isomerasa (GPI-A\*), entre las muestras del Pacífico Occidental-Central y el Pacífico Oriental, mientras que los datos de variación de mtDNA sólo logran separar los "stocks" del Océano Indico, Atlántico y Pacífico, por lo que sugieren utilizar otras técnicas de mayor resolución para la evaluación de estructura poblaconal.

Appleyard *et al.* (2001) estudiaron la estructura poblaconal del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el Océano Pacífico mediante cinco loci de microsatelites, obteniendo que solo un locus muestra una pequeña diferencia significativa, ya que todos los demás loci muestran rangos de  $F_{ST}$  muy bajos ( $F_{ST} = 0$  a 0.004). Díaz-Jaimes (1999) realizó un estudio de estructura genética poblaconal para *Thunnus albacares* del Pacífico Nororiental mediante aloenzimas y RAPD's, encontrando divergencia poblaconal significativa en ambos marcadores y concluyendo que la estructura poblaconal del atún del Pacífico Nororiental es más compleja, sin

embargo sugiere que los factores oceanográficos influyeron en la presencia de divergencia encontrada.

Existe una amplia serie de trabajos que han utilizado y comparado diferentes técnicas para realizar estimaciones de diversidad genética y de estructura poblacional entre otros aspectos, dentro de los que destacan los trabajos que comparan marcadores moleculares como los RAPD's, el DNA mitocondrial, y los microsátélites entre otros, determinando que los primeros representan un marcador valioso para la detección de diferencias a nivel intra e intrespecífico (Smith *et al.*, 1997). García y Benzie (1995), han utilizado los RAPD's para conocer el grado de polimorfismo que pueden presentarse en crustáceos; han sido utilizados también para la diferenciación entre las especies y subespecies de tilapia (Bardakci y Skibinski, 1994). Asimismo se utilizaron como marcadores moleculares en la determinación de la diversidad genética en camarones (Wolfus *et al.*, 1997) y para la identificación de poblaciones genéticas en camarones del Golfo de California (Aubert y Lightner, 2000), encontrando que con los RAPD's es posible reconocer "stocks" genéticamente discretos en regiones geográficas pequeñas. Dinesh *et al.* (1993), encontraron que la distinción entre especies de tilapias puede ser también determinada por medio de RAPD's.

Los trabajos anteriores mencionan que los RAPD's pueden ser considerados marcadores moleculares valiosos en la determinación de estructura poblacional por presentar algunas ventajas tales como la simplicidad de la técnica y su facilidad de obtención, pues al no involucrar protocolos complejos las necesidades de equipo son mínimas, lo que reduce notablemente su costo y el tiempo para su obtención, permitiendo así la posibilidad de analizar un buen número de organismos.

Además, al ser un marcador multilocus permite obtener estimadores confiables de la variabilidad genética (Fu Yu *et al.*, 1993; Silva y Russo, 2000), lo anterior aunado a su capacidad de resolución que permite detectar diferencias a nivel individual en el polimorfismo consistente en diferencias de hasta un nucleótido en la secuencia y debido a que se basa en la amplificación de múltiples regiones, le permite ser una técnica consistente al establecer diferencias entre poblaciones o entre especies (Williams *et al.*, 1990; Smith *et al.*, 1997; García y Benzie, 1995; Tood *et al.*, 1997). Por esta razón esta técnica fue seleccionada para analizar la presencia de estructura poblacional del atún aleta amarilla en muestras del Pacífico Nororiental.



## Técnica de PCR

La técnica de "Reacción en Cadena de la Polimerasa" (PCR) es indispensable para la obtención de marcadores moleculares como los VNTR's y los RAPD's. Las reacciones de PCR consiste en la amplificación de DNA mediante la actividad de la enzima *Taq* DNA polimerasa, que tiene la capacidad de adicionar nucleótidos complementarios a una cadena sencilla de DNA que sirve como molde. Dicha enzima es extraída de la bacteria *Thermus aquaticus*, la que se caracteriza por habitar en el interior de los "Geisers" (fuentes termales), situación que ha hecho necesario que la enzima pueda ser activa en rangos de temperatura altos. La reacción de PCR, requiere de una concentración optima de cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ) para su activación, de una secuencia de inicio llamada "primer" que consta de una secuencia de DNA de 10 a 20 nucleotidos, y de la presencia de nucleótidos dideoxi para ser unidos como cadena complementaria.

La técnica de PCR consta de tres pasos principales que favorecen la amplificación de fragmentos de DNA o genes seleccionados. Estos pasos son lo siguientes: 1) Desnaturalización del DNA genómico de doble cadena, que se realiza a una temperatura de 94°C que propicia la ruptura de los puentes de hidrógeno por la inestabilidad de estos entre las cadenas complementarias, con el fin de obtener DNA de cadena sencilla. 2) Alineación del "primer", que se realiza, una vez que el DNA de una hebra y los "primers" o secuencias de inicio y de termino, se reconocen y se unen a una región complementaria del DNA, esto se lleva a cabo a una temperatura que depende de las características del "primer", tales como su tamaño y contenido de citosina-guanina (C-G). Entre más alta sea la temperatura, más específica es la alineación del "primer" y la amplificación de los fragmentos será mejor en cuanto a consistencia y 3) La amplificación, en la cual la *Taq* polimerasa realiza la adición de los nucleótidos complementarios a la cadena que esta sirviendo como templado, partiendo de la secuencia de inicio ("primer"). Cada ciclo de PCR o amplificación que consta de los procedimientos anteriores puede repetirse de 20 a 45 ciclos, lo cual genera una amplificación exponencial de DNA.

## PCR (un ciclo)

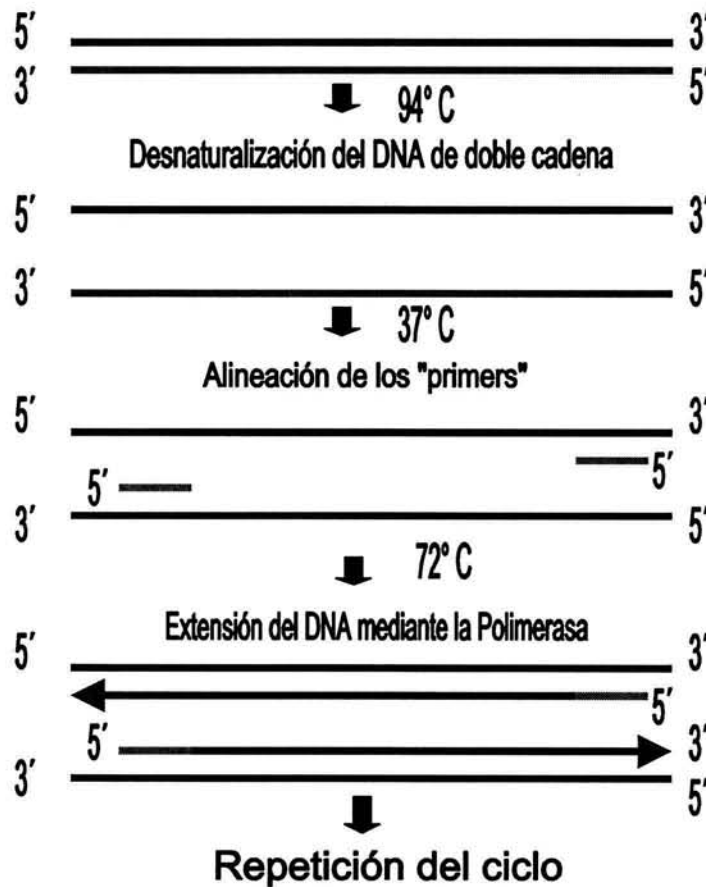


Figura 7. Representación de las tres etapas de un Ciclo de PCR.

La técnica de "Random Amplification of Polymorphic DNA" (RAPD's) se basa en la aplicación de PCR usando un solo "primer" que se une de forma aleatoria a una región complementaria del genoma, este primer sirve como secuencia de inicio para ambas cadenas complementarias ya que por probabilidad la secuencia del "primer" pueda estar contenida tanto a la cadena con sentido 3'-5' como a la cadena con sentido 5'-3' (Figura 7). Este tipo de "primer" generalmente está constituido de 10 bases con una composición del 50 a 80% de contenido de C-G para obtener una buena estabilidad en la estructura de la cadena complementaria por los tres enlaces de hidrógeno que forman estas bases nitrogenadas, evitando así que al haber un error de amplificación se rompa fácilmente el apareamiento de las cadenas de DNA, también los "primers" carecen de la región terminal para disminuir la posibilidad de formación de dímeros.

## HIPOTESIS

Debido a las características de distribución del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el Pacífico Oriental que sugieren los posibles efectos de aislamiento por distancia al igual que la presencia de factores oceanográficos como la convergencia de corrientes en la zona que puede funcionar como barrera geográfica, es factible suponer la existencia de estructura genética poblacional en el atún aleta amarilla del Pacífico Oriental que puede ser estimada mediante marcadores moleculares como los RAPD's.

## OBJETIVOS

### General

- Con el fin de determinar unidades independientes de pesca y contribuir así con criterios de administración que permitan la conservación de recurso, se pretende evaluar la presencia de estructura genética poblacional en el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico Nororiental Mexicano, con el fin de determinar subpoblaciones discretas resultado de fenómenos evolutivos tales como el aislamiento por distancia.

### Particulares

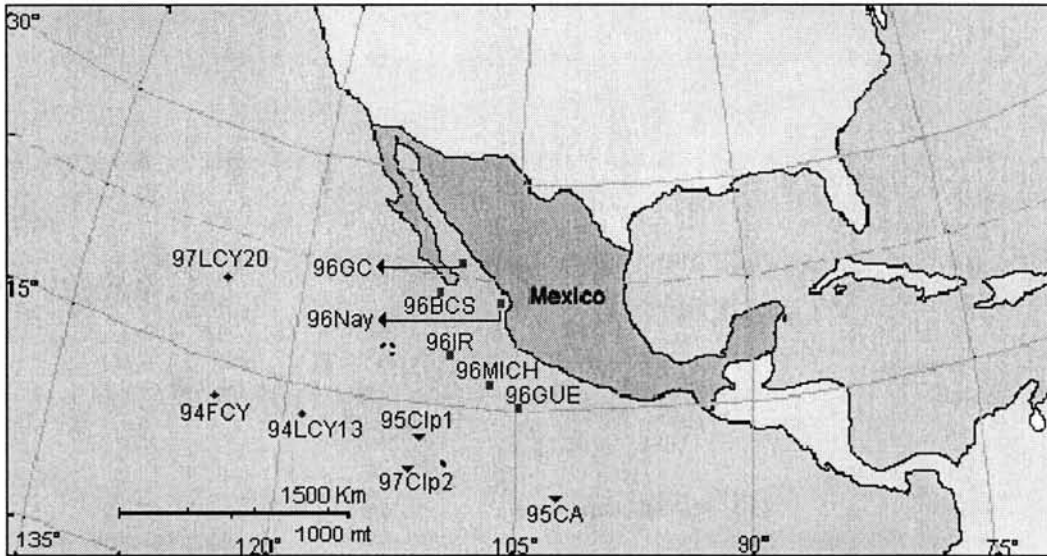
- Obtención de muestras representativas de especímenes de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) capturados por la flota comercial nacional que opera en el Pacífico oriental.
- Evaluación del polimorfismo en las muestras colectadas mediante la amplificación de fragmentos de DNA genómico por medio de la técnica de "Polymerase Chain Reaction" (PCR) y con la utilización de "primers" aleatorios.
- Obtención de las frecuencias alélicas y genotípicas de los loci polimórficos resueltos así como de los estimadores de diversidad genética a partir de heterocigosis esperada ( $H_e$ ).
- Utilización de los índices de subdivisión poblacional  $\theta$  (Weir y Cockerham, 1984) y  $G_{ST}$  (Nei, 1973), al igual que los valores de distancia génica ( $D$ ) de Nei (1972) para evaluar la presencia de divergencia poblacional.
- Estimar los valores de flujo genético ( $M\theta$  y  $MG_{ST}$ ) entre las muestras analizadas y probar su ajuste al modelo de "aislamiento por distancia" (Slatkin, 1993).

## **METODOS**

### **Obtención de Material Biológico**

Se realizaron colectas de tejido muscular de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el Pacífico Oriental, durante los años 1994, 1995, 1996 y 1997. Las colectas se realizaron en embarcaciones atuneras pertenecientes a las empresas empacadoras PINSA (Pescados Industrializados S.A.) en Mazatlán Sinaloa y PANDO (Conservas San Carlos) en Puerto San Carlos Baja California Sur. Algunas muestras fueron proporcionadas por la Comisión Interamericana del Atún Tropical (IATTC).

Las muestras consistieron en un trozo de tejido muscular de la parte posterior del organismo, el cual fue congelado de manera inmediata y transportado en nitrógeno líquido al Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, donde se almacenaron en un ultracongelador a -72°C para posteriormente ser procesadas. Dichas muestras de tejido se agruparon en 12 localidades, que a su vez, se clasificaron en tres regiones, tomando como referencia la muestra más alejada de la costa que se encuentra a 880 millas náuticas (mn), se consideraron muestras oceánicas todas aquellas que se encontraron de 880 a 530 mn, intermedias a las que se ubicaron a menos de 530 a 250 mn y costeras a las localizadas a menos de 250 mn. El tamaño de las muestras fue en promedio de 15 organismos cada una y se les asignó una nomenclatura de acuerdo a la fecha de captura y a su ubicación geográfica (ver Tabla 2). Los datos de captura como la posición, fecha, número de lance y tonelada de cada tanque de almacenaje, se tomaron de las bitácoras de las embarcaciones y fueron utilizadas para determinar tanto la ubicación como la fecha de colecta (Tabla 2 y Figura 8).



**Figura 8.** Ubicación geográfica de las muestras de Atún Aleta Amarilla (*Thunnus albacares*) capturadas en el Pacífico Mexicano por flotas atuneras comerciales. El nombre asignado a cada muestra corresponde al periodo de colecta y ubicación (ver tabla 2), cuadros rojos muestras costeras, triángulos azules intermedias y asteriscos naranjas oceánicas.

**Tabla 2.** Ubicación geográfica y año de colecta, de las muestras de atún aleta amarilla del Pacífico Nororiental. Fuera del Área Reglamentada por la Comisión del Atún Aleta Amarilla Tropical (Commission Yellowfin Regulatory Area, CYRA), (94FCY); Límite del CYRA en los 13° Latitud Norte (94LCY13); Islas Clipperton 1 (95Clp1); Centro América (95CA); Costa de Mochoacan (96MICH); Costa de Guerrero (96GUE); Islas Revillagigedo (96IR); Costa Baja California Sur (96BCS); Costa de Nayarit (96Nay); Golfo de California (96GC); Límite del CYRA en los 20° Latitud Norte (97LCY20) e Islas Clipperton 2 (97Clp2). Costeras (<sup>°</sup>), intermedias (<sup>i</sup>) y oceánicas (<sup>o</sup>).

Localidad	Ubicación		No. de Especímenes	Fecha de Captura	Fecha de Colecta
	Latitud Norte	Longitud Este			
94FCY <sup>o</sup>	12.38	124.4	15	29/03/94	8/94
94LCY13 <sup>o</sup>	13.05	119.1	15	29/03/94	8/94
95Clp1 <sup>i</sup>	13.14	111	8	09/95	09/95
95CA <sup>i</sup>	08.4	103.30	14	09/95	09/95
96MICH <sup>°</sup>	16.30	107.30	15	02/96	02/96
96GUE <sup>°</sup>	15.20	105	15	02/96	02/96
96IR <sup>°</sup>	18.30	108.3	15	02/96	02/96
96BCS <sup>°</sup>	23.08	111	15	06/96	07/96
96Nay <sup>°</sup>	22.0	106.45	15	05/94	10/96
96GC <sup>°</sup>	24.5	109	15	05/94	10/96
97LCY20 <sup>o</sup>	20.27	125.40	15	08/97	10/97
97Clp2 <sup>i</sup>	10.32	112.20	15	08/97	10/97
Total			172		

### Extracción de ADN

La extracción de DNA de cada muestra de tejido colectada se realizó siguiendo el protocolo de extracción con fenol-cloroformo de Sambrook *et al.*, (1989) con las modificaciones descritas a continuación:

- ◆ Se pesaron de 270 a 300 mg. de tejido muscular congelado, el cual se fragmentó en una caja de petri, con ayuda de un bisturí.
- ◆ El tejido se transfirió a un tubo eppendorf para macerarlo con 1 ml de buffer de extracción (10 mM Tris, 0.1 M EDTA y 5% de SDS), y 40 µl de proteinasa K (Gibco BRL 25530-015) (10mg / 0.5 ml).

- ◆ Los tubos fueron puestos en incubación a 55°C durante hora y media, posteriormente se agregaron 40 µl adicionales de proteinasa K y se incubaron nuevamente por dos horas.
- ◆ Pasado este tiempo se agregaron 700 µl de fenol equilibrado (Sigma P-4557) a cada tubo, fueron invertidos suavemente, e incubados durante 5 min. a temperatura ambiente para después ser centrifugados a 1300 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 min en una microcentrífuga Eppendorf modelo 5410.
- ◆ La fase acuosa fue transferida a un tubo nuevo al cual le fueron agregados 700 µl de una solución de fenol–cloroformo–isoamyl alcohol 24:24:1 (PCI), se invirtieron los tubos suavemente y se centrifugaron por 5 min.
- ◆ La fase acuosa fue nuevamente transferida a otro tubo y los remanentes de proteínas, restos celulares y grasa, fueron retirados adicionando 700 µl P-C-I (24:24:1) y centrifugando 5 min.
- ◆ Se transfirió la fase acuosa a un nuevo tubo al cual se le agregaron 700 µl de cloroformo – isoamyl alcohol (24:1) (Sigma C-0549), se mezcló y se centrifugó durante 3 min.
- ◆ Finalmente se transfirió la fase acuosa a un tubo nuevo para precipitar el DNA, adicionando acetato de sodio 3M en una proporción de 1/10 del volumen transferido, y 1000 µl de etanol absoluto frío, para ser incubado a –20° C durante 40 minutos o toda la noche.
- ◆ Posteriormente se centrifugó 1 min a 1300 rpm para formar un botón, se decantó la fase acuosa y el botón se enjuagó en dos ocasiones con 1000 µl de una solución de etanol al 70% con buffer TE ( 10mM tris, 0.1mM EDTA, pH 8.0). En cada lavado se centrifugó durante un minuto, se decantó el etanol y se dejó secar el precipitado para lavar nuevamente.
- ◆ Finalmente, una vez teniendo el precipitado seco, este se diluyó en 100 a 200 µl de buffer TE y se almacenó a –20° C

### **Cuantificación de DNA**

La concentración de DNA se obtuvo por medio de un fluorómetro Hoefer DyNA Quant 200, que de acuerdo con su protocolo de operación, indica utilizar una solución de ensayo consistente de 10 µl. de solución Hoechst (No. de catálogo 3258), 10 ml de TNE 10X, (100 mM Tris, 10 mM EDTA, 2M NaCl) y 90 ml. de agua destilada filtrada y estéril. Para la obtención de cada lectura se tomó 2 ml de la solución de ensayo y se le adicionó 2 µl del DNA a cuantificar. Las lecturas del fluorómetro se obtienen en ng/µl.

Una vez conocida la concentración del stock de DNA de cada muestra se realizaron ensayos para determinar la concentración que generara mejores resultados de amplificación. Dichas pruebas consistieron en realizar ensayos de amplificación con muestras sin diluir y con diferentes diluciones de DNA; 0.5, 0.7, 1.0, 1.2 y 1.5 ng/μl, determinando como concentración óptima, aquella que produjera bandas consistentes en cuanto a la presencia e intensidad de los fragmentos amplificados. Por ello todas las muestras trabajadas se diluyeron a una concentración de 0.7 ng/μl para la realización de la técnica de PCR (Díaz-Jaimes, 1999).

Los "primers" utilizados para la obtención de RAPD's, fueron adquiridos de la empresa Operon Technologies y están formados por secuencias aleatorias conocidas (ver Tabla 3.). Con el fin de identificar aquellos "primers" con patrones de amplificación constantes y polimorfismo consistente, se realizaron pruebas con tres kits de 20 "primers" distintos cada uno, de las series OPA, OPB y OPF (Operon™)

La técnica de RAPD's se llevó a cabo en un termociclador Bio Rad (versión 1.7) utilizando un programa de 44 ciclos, iniciando con un ciclo de un minuto a 94°C, y cada ciclo subsecuente con las siguientes características:

- 1 min. de desnaturalización a 94°C



En cada ensayo de PCR se incluyeron 3 controles, para corroborar que las amplificaciones obtenidas no fueran resultado de contaminación o dimerización de los "primers". Los controles presentaron las siguientes características: uno con primer, mezcla de reacción (master mix) y sin muestra de DNA; otro con DNA, "master mix" y sin primer y el tercer control sólo con la mezcla de reacción.

### **Electroforesis**

Los productos de amplificación fueron separados por medio de electroforesis horizontal en geles de agarosa, la cual consiste en la separación de fragmentos de DNA por medio de su carga y peso en una matriz de gel a la cual se le aplica una corriente eléctrica utilizando una solución amortiguadora (buffer). La electroforesis se llevó a cabo en un equipo Horizon modelo 11-14 (Gibco BRL 15510-019) con un gel de agarosa al 1.5% (peso/volumen), preparado con buffer TBE (0.09M Tris, 0.09M Ácido Bórico y 0.02 M de EDTA) a pH 8.0 preparado de una solución stock 5X.

Cada uno de los geles se preparó mezclando 110 ml de buffer TBE 1X con 1.65 gramos de agarosa, la mezcla se calentó en un horno de microondas hasta su ebullición, posteriormente se enfrió hasta obtener una temperatura de aproximadamente 55°C para finalmente agregarle 5.6µl de bromuro de etidio (Gibco BRL 15585-011) con el fin de hacer visibles los fragmentos amplificados. La mezcla se vació en la cámara de electroforesis para geles con un espaciador para 20 carriles y se dejó reposar hasta su gelificación durante 20 a 30 minutos.

Los productos de la amplificación fueron mezclados por separado con 4.5µl. de buffer de carga (Gibco BRL 10816-015) para cada muestra. En cada corrimiento se incluyeron 25 µl de un marcador molecular de 100 pares de bases (Gibco BRL 15628-019), con el fin de determinar el tamaño de los fragmentos de DNA amplificados. Las condiciones de corrimiento electroforético fueron de 100 mA (90 Volts), durante hora y media. La corriente fue generada mediante una fuente de poder Pharmacia Biotech EPS – 600. Una vez transcurrido el tiempo de electroforesis el gel se colocó en un transluminador de luz UV (foto/UV300) a 302 nm para la visualización de los fragmentos separados, los geles fueron fotografiados con una cámara Polaroid DS34 utilizando una película de revelado instantáneo (Polaroid 667).

## Análisis de Datos

Debido a la procedencia de las diferentes colectas, en cuanto a época, año y zona de captura, estas fueron analizadas como muestras independientes, con el fin de determinar diferencias significativas en la distribución de las frecuencias génicas entre sitios de captura.

Una vez realizados los ensayos de PCR:

- Se seleccionaron los "primers" que generaron el menor número de fragmentos resultantes de su dimerización y que presentaran el mayor número de fragmentos consistentes (bandas bien definidas) con indicios de polimorfismo en el patrón de bandeo.
- De los fragmentos obtenidos se tomaron en cuenta sólo aquellas bandas que presentaron consistencia de amplificación después de la técnica de electroforesis y que se presentaron de forma constante en las muestras.
- Y se determinó el tamaño en pares de bases (pb) de las bandas seleccionadas.

Los "primers" que presentaron las características mencionadas fueron usados para ensayar el PCR con el número total de organismos de cada muestra y obtener así los patrones de bandas que fueron considerados para el cálculo de las frecuencias alélicas y de los diferentes estimadores de divergencia poblacional. Dado que los RAPD's son marcadores moleculares de carácter dominante, se consideró que cada fragmento amplificado corresponde a la expresión del alelo dominante, mientras que su ausencia, corresponderá al alelo recesivo. En virtud de que resulta imposible determinar la frecuencia de este último por conteo directo y para evitar su subestimación, se utilizó el criterio de  $1-3/N$  (N es el tamaño de muestra) para eliminar los loci con frecuencias bajas de ese alelo; así aquellos fragmentos con frecuencias menores al valor definido fueron omitidos del análisis (Lynch y Milligan, 1994).

Partiendo de los genotipos dominantes (presencia o ausencia de cada fragmento amplificado) y asumiendo condiciones de equilibrio de Hardy- Weinberg, ya que la condición de dominancia del marcador utilizado no permite precisar la proporción de genotipos heterocigos por conteo directo ( $H_o$ ), el cálculo de las frecuencias se realizó bajo el principio de Hardy- Weinberg, mismo que asume una distribución binomial de las frecuencias de los genotipos mediante la expresión:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Donde:

$p^2$  = frecuencia del genotipo homocigoto del alelo dominante.

$2pq$  = frecuencia del genotipo heterocigotos, (incluido en la proporción de  $p^2$ )

$q^2$  = frecuencia del genotipo homocigoto del alelo recesivo

La expresión anterior considerando las frecuencias de los alelos, puede ser resumida en la ecuación:

$$p + q = 1$$

Donde  $p$  = la frecuencia del alelo dominante que incluye a los genotipos heterocigotos.

Por lo tanto y dado que partimos de la estimación de las frecuencias del alelo dominante, el valor del alelo recesivo se obtiene mediante:

$$q = 1 - p$$

Debido a que el anterior razonamiento se basa en una estimación indirecta de los individuos con genotipos recesivos, el sesgo atribuido a dicha estimación se corrigió mediante la ecuación de segundo orden de Taylor (Kendall y Stuart, 1997; citado por Le Corre *et al.*, 1997) dada por la expresión:

$$y_i = -f_i/2(1-f_i) + \Delta^{1/2}/2(1-f_i) - (1-f_i) \Delta^{-3/2} \text{Var}(q_i)$$

donde:

$$\Delta = f_i^2 + 4(1-f_i)q_i \quad \text{y} \quad \text{Var}(q_i) = q_i(1-q_i)/n_i$$

donde:

$n_i$  es el número de organismos de cada muestra  $i$ ,  $q_i$  es la frecuencia observada de los individuos con ausencia del fragmento en la muestra  $i$ , y  $f_i$  es el coeficiente de endogamia. Por lo que la frecuencia del alelo recesivo incorporando la corrección mencionada se obtuvo por la ecuación de  $y_i$ .

$$q_i = y_i^2 (1 - f_i) + f_i y_i$$

Los datos para cada loci fueron analizados de acuerdo a los algoritmos mencionados, utilizando el programa de "Tools For Population Genetic Analysis" (TFPGA) versión 1.3 (Miller, 1997) mediante el cual se obtuvieron las frecuencias alélicas así como la heterocigosis esperada ( $H_e$ ),

Una vez obtenidas las frecuencias alélicas, estas fueron utilizadas para corroborar la homogeneidad de frecuencias, la cual se realizó mediante la aplicación de la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995), que realiza una estimación mediante una tabla de contingencia, generando valores de chi-cuadrada y su probabilidad de significancia ( $P$ ). De estos últimos análisis se obtuvieron los valores de error estándar mediante remuestreos por Monte Carlo que consistieron en 10 ciclos de

1000 pasos reiterativos y cada ciclo con 2000 permutaciones. Dichas estimaciones fueron realizadas tanto por locus, como en comparaciones entre pares de muestras.

Con el fin de determinar la presencia de estructura genética poblacional, se utilizaron los programas TFPGA para obtener el estimador de subdivisión poblacional, descrito por Weir y Cockerham (1984), que es equivalente al estadístico  $F_{ST}$  de Wright y que es denominado aquí como:  $\theta = F_{ST}$ . Y el software, Population Genetic Analysis (PopGene) versión 1.31; (Yen y Yang, 1999), para obtener el estadístico  $G_{ST}$  de Nei (1973) y evaluar así la diferenciación generada en los loci y entre pares de muestras. La razón por la que se estimaron ambos índices ( $\theta$  y  $G_{ST}$ ) es que el primero que parte de un análisis de varianza, tiene un valor menor de sesgo por considerar la varianza generada en cada análisis tanto para los loci como para pares de muestras, además de que considera la expresión de alelos múltiples (comparación de pares de alelos entre individuos de cada población), y toma en cuenta tamaños de muestras distintos; mientras que el segundo, que se genera a partir de análisis de medias, tiene la ventaja de ser un estimador que se presenta en muchos trabajos y de ser una expresión multialélica de la  $F_{ST}$  de Wright (1965). Mientras que la desventaja de análisis de medias, es generar un sesgo mayor por aquellos valores mayores que otros y por no considerar tamaños de muestras distintos. De tal forma que al obtener ambos índices es posible saber qué par de muestras presentan mayor divergencia y que locus o loci específicos da una mayor subdivisión poblacional.

Para ambos estimadores se obtuvieron los valores de significancia, tanto para los índices estimados por loci como para los pares de muestras, mediante una prueba de chi-cuadrada ( $\chi^2$ ) realizada mediante la fórmula de  $\chi^2=2N F_{ST} (k-1)$ , donde k = al número de alelos, con 1 grado de libertad (*g.l.*) para el análisis de loci y 11 *g.l.* para el análisis entre pares de muestras; los cálculos fueron realizados mediante el programa de Statgraphics versión 5.0.

La distancia genética de Nei (1972), de comparaciones entre pares de muestras, se obtuvieron a partir de las frecuencias alélicas de las muestras utilizando el programa TFPGA.

A partir de los valores de  $G_{ST}$  y  $\theta$  se realizaron estimaciones de flujo génico entre pares de poblaciones, que son denominadas como M, usando la fórmula descrita por Slatkin (1991),  $M = \frac{1}{4} (1/F_{ST} - 1)$ . de esta forma se obtiene la estimación de M que corresponde al número de migrantes por generación entre pares de muestras, mediante la  $\theta$  ( $M\theta$ ) y mediante  $G_{ST}$  ( $MG_{ST}$ ). Igualmente, fueron obtenidos los valores de distancia geográfica en millas náuticas entre pares de muestras. A partir del análisis de flujo genético y de la distancia geográfica, fueron elaboradas matrices de datos, para

estimar su correlación mediante la prueba de Mantel (Hellberg, 1994), ya que está resulta más apropiada que una regresión simple debido a que en esta se viola el supuesto de independencia de los datos.

Finalmente, a partir de las distancias genéticas de Nei (1972) y mediante un análisis de agrupamiento utilizando el método de "Unweighted-Pair Group Method with Arithmetic Mean" (UPGMA) de acuerdo con Swofford y Olson (1990), se obtuvo el dendrograma correspondiente; de manera alterna, con el método de Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987) utilizando el programa Phyllip (Felsenstein, 1995), donde fue realizado un remuestreo por "bootstrap" utilizando 1000 replicas para la obtención de estimaciones de la consistencia de ramas y dar así confiabilidad a los resultados del agrupamiento, se obtuvo un segundo dendrograma.

## RESULTADOS

De un total de 60 "primers" ensayados, sólo seis produjeron fragmentos informativos para estimar la divergencia poblacional. Los "primers" que resultaron con polimorfismo claro y consistente fueron OPF-13, OPA-3, OPF-1, OPF-2, OPA-13 y OPF-3 los cuales generaron de 6 a 14 bandas por "primer" (Figura 9, 10 y 11). El número de bandas que amplificó cada primer y el que fué utilizado para el análisis se muestran en la tabla 3. Los "primers" analizados produjeron un total de 40 fragmentos amplificados de manera consistente y cuyo tamaño se ubicó dentro de un rango de 220 a 1200 pares de bases (pb) y en su conjunto representan el número de loci analizados. De estos loci, fueron recopilados los datos de presencia y/o ausencia de las bandas amplificadas para determinar su condición genotípica.

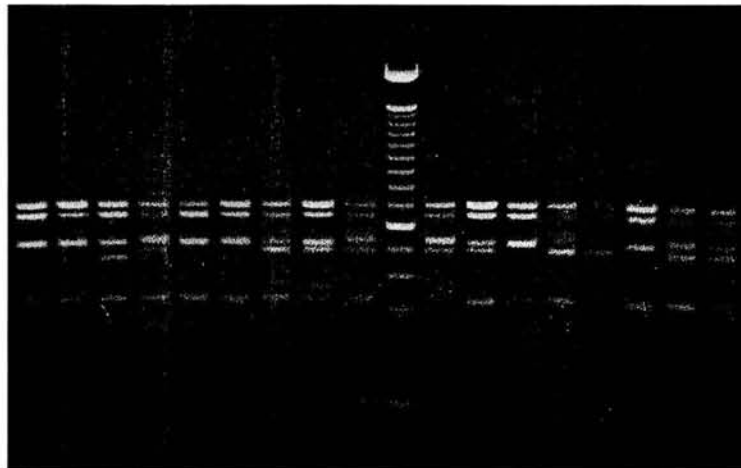


Figura 9. Patrón de bandeo del primer OPF-13

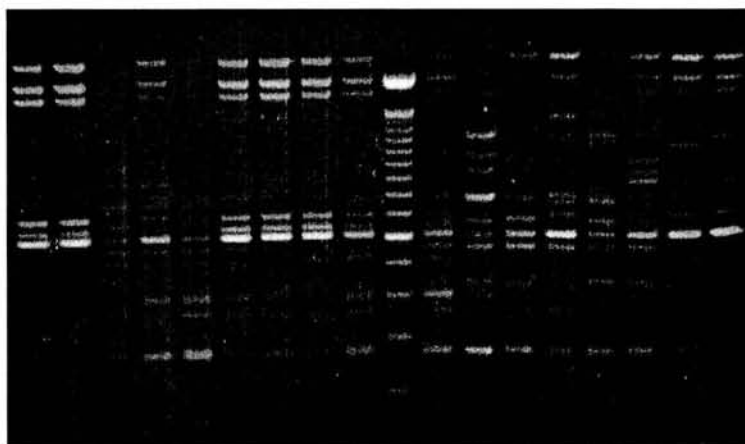


Figura 10. Patrón de bandeo del primer OPA-13

Tabla 3. Secuencias de los "Primers" utilizados y número de fragmentos amplificados en muestras del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), del Pacífico Nororiental.

Nombre del primer	Secuencia de cada primer con el 60% de C-G	Numero de fragmentos amplificados	Numero de fragmentos informativos
OPF-13	GGCTGCAGAA	6	4
OPA-3	AGTCAGCCAC	10	7
OPF-1	ACGGATCCTG	9	6
OPF-2	GAGGATCCCT	11	9
OPA-13	CAGCACCCAC *	14	7
OPF-3	CCTGATCACC	9	7

\* Presenta el 70% de citocina-guanica (C-G)

**Tabla 4.** Estimación de las frecuencias del alelo dominante (p) y recesivo (q), utilizando la expansión de Taylor para los loci detectados en las 12 muestras de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico Nororiental. En los últimos renglones se muestra el valor de heterocigosis esperada (Hs) por muestra, y el porcentaje de la proporción de loci polimorficos. La nomenclatura en la primera columna indica tipo y número de "primer", seguida del número asignado a cada fragmento de amplificación de dicho primer.

POB/ LOCI (n)	94 FCY 15	94 LCY13 15	95 CLP1 8	95 CA 14	96 MICH 15	96 GUE 15	96 IR 15	96 BCS 15	96 NAY 15	96 GC 15	97 LCY20 15	97 CLP2 15
F-13.1 p	1.0000	0.7077	0.4754	0.3926	1.0000	0.7077	0.7077	0.7077	0.5374	0.2643	0.7077	0.7077
F-13.1 q	0.0000	0.2923	0.5246	0.6074	0.0000	0.2923	0.2923	0.2923	0.4626	0.7357	0.2923	0.2923
F-13.2 p	0.3103	0.7077	0.3713	0.3375	1.0000	0.4129	0.3595	0.6139	0.3595	0.1801	0.6139	0.6139
F-13.2 q	0.6897	0.2923	0.6287	0.6625	0.0000	0.5871	0.6405	0.3861	0.6405	0.8199	0.3861	0.3861
F-13.3 p	0.4129	0.3595	0.4754	0.2865	0.4715	0.7077	0.6139	0.5374	0.5374	0.2643	0.4715	0.6139
F-13.3 q	0.5871	0.6403	0.5246	0.7135	0.5285	0.2923	0.3861	0.4626	0.4626	0.7357	0.5285	0.3861
F-13.4 p	0.7077	0.7077	0.6030	1.0000	0.5374	0.5374	0.5374	0.4129	0.4129	0.3595	0.5374	1.0000
F-13.4 q	0.2923	0.2923	0.3970	0.0000	0.4626	0.4626	0.4626	0.5871	0.5871	0.6405	0.4626	0.0000
A-3.1 p	0.4715	1.0000	1.0000	0.5214	1.0000	0.7077	0.5374	0.4715	0.6139	0.4129	1.0000	0.7077
A-3.1 q	0.5285	0.0000	0.0000	0.4786	0.0000	0.2923	0.4626	0.5285	0.3861	0.5871	0.0000	0.2923
A-3.2 p	0.6139	1.0000	1.0000	0.4533	0.7077	0.5374	0.6139	0.4129	0.5374	0.3595	0.4715	0.6139
A-3.2 q	0.3861	0.0000	0.0000	0.5467	0.2923	0.4626	0.3861	0.5871	0.4626	0.6405	0.5285	0.3861
A-3.3 p	0.3103	0.1801	0.1294	0.2865	0.4129	0.3103	0.1801	0.1410	0.2211	0.0679	0.1037	0.4129
A-3.3 q	0.6897	0.8199	0.8706	0.7135	0.5871	0.6897	0.8199	0.8590	0.7789	0.9321	0.8963	0.5871
A-3.4 p	0.3595	0.4715	0.6030	0.3926	0.6139	0.5374	0.2643	0.3595	0.3595	0.1410	0.3595	0.4129
A-3.4 q	0.6405	0.5285	0.3970	0.6074	0.3861	0.4626	0.7357	0.6405	0.6405	0.8590	0.6405	0.5871
A-3.5 p	0.3595	0.3103	0.3713	0.4533	0.5375	0.3103	0.6139	0.2643	0.6139	0.2211	0.4715	0.2211
A-3.5 q	0.6405	0.6897	0.6287	0.5467	0.4626	0.6897	0.3861	0.7357	0.3861	0.7789	0.5285	0.7789
A-3.6 p	0.2643	0.3103	0.1294	0.1518	0.3103	0.1801	0.4715	0.1801	0.3103	0.2211	0.4129	0.3959
A-3.6 q	0.7357	0.6897	0.8706	0.8482	0.6897	0.8199	0.5285	0.8199	0.6897	0.7789	0.5871	0.6405
A-3.9 p	0.2211	0.2211	0.4754	0.5214	0.4129	0.3595	0.2211	0.4129	0.1801	0.1801	0.3595	0.4715
A-3.9 q	0.7789	0.7789	0.5246	0.4786	0.5871	0.6405	0.7789	0.5871	0.8199	0.8199	0.6405	0.5285
F-1.1 p	0.4715	0.6139	0.2817	0.3375	0.5374	0.4715	0.4129	0.5374	0.1410	0.1410	0.4715	0.5374
F-1.1 q	0.5285	0.3861	0.7183	0.6625	0.4626	0.5285	0.5871	0.4626	0.8590	0.8590	0.5285	0.4626
F-1.2 p	0.1801	0.1410	0.1294	0.2390	0.1801	0.3103	0.2211	0.4129	0.1410	0.2211	0.4129	0.2643
F-1.2 q	0.8199	0.8590	0.8706	0.7610	0.8199	0.6897	0.7789	0.5871	0.8590	0.7789	0.5871	0.7357
F-1.3 p	0.2643	0.1037	0.2019	0.1114	0.0333	0.0000	0.3595	0.3103	0.3959	0.3103	0.2211	0.0333
F-1.3 q	0.7357	0.8963	0.7981	0.8886	0.9667	1.0000	0.6405	0.6897	0.6405	0.6897	0.7789	0.9667
F-1.4 p	0.2211	0.3595	1.0000	0.2865	0.2211	0.7077	0.4129	0.5374	0.4715	0.1410	0.1801	0.4715
F-1.4 q	0.7789	0.6405	0.0000	0.7135	0.7789	0.2923	0.5871	0.4626	0.5285	0.8590	0.8199	0.5285
F-1.5 p	0.4129	0.2211	0.2019	0.2865	0.3595	0.3103	0.4129	0.1410	0.1037	0.1410	0.1801	0.3595
F-1.5 q	0.5871	0.7789	0.7981	0.7135	0.6405	0.6897	0.5871	0.8590	0.8963	0.8590	0.8199	0.6405
F-1.7 p	0.4715	0.4715	0.6030	0.4533	0.4715	0.4129	0.3103	0.4129	0.4129	0.3103	0.4129	0.4129
F-1.7 q	0.5285	0.5285	0.3970	0.5467	0.5285	0.5871	0.6897	0.5871	0.5871	0.6897	0.5871	0.5871
F-2.1 p	0.1410	0.0333	0.0625	0.0785	0.0000	0.2211	0.2643	0.0333	0.2390	0.1114	0.1410	0.1410
F-2.1 q	0.8590	0.9667	0.9375	0.9215	1.0000	0.7789	0.7357	0.9667	0.7610	0.8886	0.8590	0.8590
F-2.2 p	0.3595	0.0679	0.2817	0.0785	0.4715	0.3103	0.6139	0.3103	0.1114	0.0357	0.2643	0.2643
F-2.2 q	0.6405	0.9321	0.7183	0.9215	0.5285	0.6897	0.3861	0.6897	0.8886	0.9643	0.7357	0.7357



Continuación

F-2.4 p	0.2643	0.2211	0.1294	0.0385	0.2211	0.1037	0.3595	0.0679	0.1114	0.1114	0.2643	0.2643
F-2.4 q	0.7357	0.7789	0.8706	0.9615	0.7789	0.8963	0.6405	0.9321	0.8886	0.8886	0.7357	0.7357
F-2.5 p	0.4715	0.3103	0.1294	0.2601	0.7077	0.4715	0.3595	0.4715	0.2865	0.1114	0.4129	0.5374
F-2.5 q	0.5285	0.6897	0.8706	0.7399	0.2923	0.5285	0.6405	0.5285	0.7135	0.8886	0.5871	0.4626
F-2.6 p	0.3595	0.4129	0.2019	0.1644	0.6139	0.3103	0.6139	0.1037	0.1942	0.0357	0.3959	0.5374
F-2.6 q	0.6405	0.5871	0.7981	0.8356	0.3861	0.6897	0.3861	0.8963	0.8058	0.9643	0.6505	0.4626
F-2.7 p	0.2643	0.3103	0.3713	0.2108	0.5374	0.2211	0.2643	0.1803	0.1114	0.1114	0.2643	0.2643
F-2.7 q	0.7357	0.6897	0.6287	0.7892	0.4626	0.7789	0.7357	0.8199	0.8886	0.8886	0.7357	0.7357
F-2.8 p	0.2643	0.3103	0.2019	0.2601	0.2643	0.5374	0.3103	0.3595	0.1114	0.0357	0.2211	0.5374
F-2.8 q	0.7357	0.6897	0.7981	0.7399	0.7357	0.4626	0.6897	0.6405	0.8886	0.9643	0.7789	0.4626
F-2.9 p	0.4715	0.6139	0.4754	0.3129	0.7077	0.4715	0.4129	0.4129	0.0728	0.0000	0.4129	0.6139
F-2.9 q	0.5285	0.3861	0.5246	0.6871	0.2923	0.5285	0.5871	0.5871	0.9272	1.0000	0.5871	0.3861
F-2.10 p	0.4129	0.1037	0.0000	0.1644	0.2211	0.0679	0.0679	0.1410	0.1114	0.0728	0.0333	0.1410
F-2.10 q	0.5871	0.8963	1.0000	0.8356	0.7789	0.9321	0.9321	0.8590	0.8886	0.9272	0.9667	0.8590
A-13.1 p	0.7077	1.0000	0.6030	0.2865	1.000	0.6139	0.3103	0.6139	0.4129	0.1114	0.5374	0.4715
A-13.1 q	0.2923	0.0000	0.3970	0.7135	0.000	0.3861	0.6897	0.3961	0.5871	0.8886	0.4626	0.5285
A-13.3 p	0.4129	0.4715	0.4754	0.4533	0.2643	0.2211	0.1801	0.5374	0.1801	0.3375	0.4715	0.3959
A-13.3 q	0.5871	0.5285	0.5246	0.5467	0.7357	0.7789	0.8199	0.4626	0.8199	0.6325	0.5285	0.6405
A-13.4 p	0.1801	0.2211	0.2817	0.0728	0.3103	0.2211	0.2643	0.2211	0.2643	0.0728	0.3959	0.1801
A-13.4 q	0.8199	0.7789	0.7183	0.9272	0.6897	0.7789	0.7357	0.7789	0.7357	0.9272	0.6405	0.8199
A-13.5 p	0.4715	0.4129	0.0625	0.0357	1.0000	0.2643	0.2643	0.2643	0.2211	0.2390	0.3103	0.3959
A-13.5 q	0.5285	0.5871	0.9375	0.9643	0.0000	0.7357	0.7357	0.7357	0.7789	0.7610	0.6897	0.6405
A-13.8 p	0.3595	0.6139	0.4754	0.3926	0.5374	0.6139	0.3103	0.3103	0.3103	0.1518	0.0333	0.0333
A-13.8 q	0.6402	0.3861	0.5246	0.6074	0.4626	0.3861	0.6897	0.6897	0.6897	0.8482	0.9667	0.9667
A13.11 p	0.1801	0.1801	0.1294	0.1114	0.1410	0.1410	0.1410	0.1801	0.2643	0.1518	0.4129	0.1410
A-13.11 q	0.8199	0.8199	0.8706	0.8886	0.8590	0.8590	0.8590	0.8199	0.7357	0.8482	0.5871	0.8590
A13.12 p	0.1801	0.2211	0.3713	1.0000	0.0679	0.1037	0.1410	0.0679	0.0679	0.0000	0.2643	0.2643
A-13.12 q	0.8199	0.7789	0.6287	0.0000	0.9321	0.8963	0.8590	0.9321	0.9321	1.0000	0.7357	0.7357
F-3.1 p	0.4129	0.4715	0.2019	0.5214	0.6139	0.4715	0.2865	0.5374	0.2854	0.2854	0.7077	0.5374
F-3.1 q	0.5871	0.5285	0.7981	0.4786	0.3861	0.5285	0.7135	0.4626	0.7146	0.7146	0.2923	0.4626
F-3.2 p	0.1801	0.1410	0.2019	0.1114	0.0679	0.1037	0.0357	0.1037	0.0000	0.0417	0.2643	0.1801
F-3.2 q	0.8199	0.8590	0.7981	0.8886	0.9321	0.8963	0.9643	0.8963	1.0000	0.9583	0.7357	0.8199
F-3.3 p	0.1801	0.3595	0.0625	0.0728	0.4715	0.2643	0.1114	0.4129	0.0417	0.0852	0.2643	0.2643
F-3.3 q	0.8199	0.6405	0.9375	0.9272	0.5285	0.7357	0.8886	0.5871	0.9583	0.9148	0.7357	0.7357
F-3.4 p	0.2211	0.2643	0.6030	0.6976	0.3103	0.2211	0.1518	0.3103	0.0852	0.4104	0.1410	0.2211
F-3.4 q	0.7789	0.7357	0.3970	0.3024	0.6897	0.7789	0.8482	0.6897	0.9148	0.5896	0.8590	0.7789
F-3.5 p	0.1801	0.1801	0.1294	0.1518	0.1410	0.1801	0.2865	0.1410	0.2854	0.2305	0.1410	0.1801
F-3.5 q	0.8199	0.8199	0.8706	0.8482	0.8590	0.8199	0.7135	0.8590	0.7146	0.7695	0.8590	0.8199
F-3.6 p	0.0679	0.3333	0.0625	0.0728	0.1410	0.3595	0.2865	0.3103	0.3449	0.3449	0.1037	0.1410
F-3.6 q	0.9321	0.9666	0.9375	0.9272	0.8590	0.6405	0.7135	0.6897	0.6551	0.6551	0.8963	0.8590
F-3.7 p	0.3103	0.3595	0.2019	0.1114	0.4715	0.3103	0.1942	0.4715	0.4839	0.6740	0.3103	0.6139
F-3.7 q	0.6897	0.6405	0.7981	0.8886	0.5285	0.6897	0.8058	0.5285	0.5161	0.3260	0.6897	0.3861
Heterocig. Subpobl. (Hs) HT= 0.3686	0.4065	0.3548	0.3405	0.3336	0.3493	0.4006	0.4054	0.3999	0.3549	0.2833	0.3940	0.4004
% de la proporción de loci polimorf.	97	87	90	90	82	97	97	97	95	85	92	92

Las frecuencias alélicas estimadas para cada loci en las muestras analizadas son presentadas en la tabla 4. De manera global las frecuencias alélicas con frecuencia fija representaron el 33.3% de los alelos. El locus con mayor numero de alelos fijos fue el A-3.1, mientras que las muestras con menor número de alelos fijos fueron: 96MICH (10%), 94LCY13 y 95Clp1 (7.5%, para ambas muestras). No se presentaron fragmentos exclusivos para ninguna muestra analizada. La proporción de loci polimórficos en las muestras analizadas se ubica en un rango de 82% al 97% (bajo el criterio del 95%) siendo la muestra de 96MICH fue la que presentó menor proporción de estos.

La heterocigosis media esperada para todas las muestras fue de  $H_T = 0.3686$ , las muestras presentaron valores de heterocigosis esperada ( $H_s$ ) con un rango de 0.2833 a 0.4065, presentando los datos más altos en las muestras 94FCY (0.4065), 96IR (0.4054), 96GUE (0.4006) y 97Clp2 (0.4004); mientras que los valores más bajos se presentaron en 95CA (0.3336) y 96GC (0.2833) (Tabla 4). La heterocigosis media esperada para todos los loci fue de  $H_T = 0.3694$ , de manera individual los valores más altos de  $H_e$  media se presentaron en los loci F-13.3 (0.4837), A-3.4 (0.4654), F-1.7 (0.4970) y F-3.1 (0.4688) y los más bajos fueron de 0.2090 y 0.2069, en los fragmentos F-2.10 y F-3.2 respectivamente (Tabla 5).

**Tabla 5.** Estimación de los valores de heterocigosis esperada (He) total por cada loci de RAPD's en 12 poblaciones de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*). P = probabilidad de significancia de la prueba exacta para corroborar la homogeneidad de frecuencias;  $\alpha = 0.05$ . \*valores significativos.

Locus de 6 primers	Heterocigosis esperada (He)	P	Locus de 6 primers	Heterocigosis esperada (He)	P
F-13.1	0.4116	0.0008*	F-2.5	0.4316	0.0029*
F-13.2	0.4219	0.0020*	F-2.6	0.3841	0.0000*
F-13.3	0.4837	0.1120	F-2.7	0.3735	0.1065
F-13.4	0.4086	0.0315*	F-2.8	0.3810	0.0051*
A-3.1	0.3261	0.0306*	F-2.9	0.4219	0.0000*
A-3.2	0.4112	0.1649	F-2.10	0.2092	0.0207*
A-3.3	0.3411	0.0368*	A-13.1	0.3769	0.0000*
A-3.4	0.4654	0.0819	A-13.3	0.4502	0.0813
A-3.5	0.4583	0.0355*	A-13.4	0.3429	0.2691
A-3.6	0.3915	0.2971	A-13.5	0.3394	0.0000*
A-3.9	0.4334	0.0694	A-13.8	0.3939	0.0000*
F-1.1	0.4565	0.0024*	A-13.11	0.2946	0.5110
F-1.2	0.3575	0.2806	A-13.12	0.2333	0.0000*
F-1.3	0.2893	0.0000*	F-3.1	0.4688	0.0553
F-1.4	0.3870	0.0000*	F-3.2	0.2069	0.1373
F-1.5	0.3768	0.0806	F-3.3	0.3101	0.0002*
F-1.7	0.4970	0.9429	F-3.4	0.3742	0.0022*
F-2.1	0.2086	0.0271*	F-3.5	0.3084	0.9421
F-2.2	0.3468	0.0000*	F-3.6	0.2868	0.0011*
F-2.4	0.2872	0.0682	F-3.7	0.4307	0.0014*
			TOTAL	0.3694	0.0000*

El resultado de la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995) por loci para evaluar la homogeneidad de las frecuencias alélicas, mostró que el 60% de los fragmentos presentaron valores significativos ( $P \leq 0.05$ ) indicando la presencia de heterogeneidad en la distribución de frecuencias alélicas entre las muestras analizadas. De manera global se obtuvo un valor de  $\chi^2 = 394.9859$ , que coincide con la heterogeneidad reportada en análisis previos de atún aleta amarilla mediante RAPD's (Díaz-Jaimez, 1999). Los valores más significativos se encontraron en los loci F1.3, F-1.4, F-2.2, F-2.6, F-2.9, A-13.1, A-13.5, A-13.8 y A-13.12 ( $P=0.00001$ ; Tabla 5). Este mismo análisis, realizado para evaluar la homogeneidad entre pares de muestras, mostró que el 48.48% de las comparaciones resultaron significativas, las muestras que presentaron la mayor significancia tanto en número como en magnitud de los valores de heterogeneidad respecto del resto de las localidades fueron las muestras 96GC, 95CA, 96MICH y 96Nay con valores de probabilidad por debajo de los límites de significancia ( $P < 0.0001$ ; Tabla. 6).

**Tabla 6.** Valores de probabilidad de significancia (P) de la homogeneidad de frecuencias alélicas de comparaciones entre pares de muestras de atún aleta amarilla del Pacífico Nororiental obtenidos mediante la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995); \* valores significativos,  $\alpha = 0.05$ .

	94 FCY	94 LCY13	95 Clp1	95 CA	96 MICH	96 GUE	96 IR	96 BCS	96 Nay	96 GC	97 LCY20	97 Clp2
94FCY	*****											
94LCY13	0.9983	*****										
95Clp1	0.3755	0.8265	*****									
95CA	0.0044*	0.0007*	0.9484	*****								
96MICH	0.6635	0.9647	0.0002*	0.0000 *	*****							
96GUE	0.7943	0.8111	0.6873	0.0003*	0.3297	*****						
96IR	0.8990	0.0074*	0.1003	0.0000 *	0.0009*	0.6133	*****					
96BCS	0.7695	0.6468	0.3350	0.0014*	0.0340*	0.9922	0.0485*	*****				
96Nay	0.0125*	0.0001*	0.0610	0.0000 *	0.0000 *	0.0215*	0.5774	0.0635	*****			
96GC	0.0000 *	0.0000 *	0.0000 *	0.0000 *	0.0000 *	0.0000 *	0.0000 *	0.0000 *	0.5322	*****		
97LCY20	0.8773	0.7996	0.1225	0.0000 *	0.0227*	0.1606	0.2898	0.8073	0.0048*	0.0000 *	*****	
97Clp2	0.9472	0.9287	0.0244*	0.0000 *	0.5189	0.9820	0.1525	0.5677	0.0000 *	0.0000 *	0.9604	*****

Las estimaciones del índice de subdivisión subpoblacional de Weir y Cockerham (1984) por locus, tuvo el 55% de los valores con probabilidad notablemente significativa ( $P \ll 0.00001$ ). Lo anterior se presentó en los loci F-13.1 ( $\theta = 0.1829$ ), F-13.2 ( $\theta = 0.1776$ ), F-13.4 ( $\theta = 0.1579$ ), A-3.1 ( $\theta = 0.2217$ ), F-1.4 ( $\theta = 0.1705$ ), F-2.9 ( $\theta = 0.1472$ ), A-13.1 ( $\theta = 0.2644$ ), A-13.5 ( $\theta = 0.2359$ ), A-13.8 ( $\theta = 0.1489$ ) y A-13.12 ( $\theta = 0.3665$ ), mientras que aquellos de valor menor ( $P < 0.05$ ), se encontraron en A-3.2 ( $\theta = 0.1234$ ), F-1.1 ( $\theta = 0.0680$ ), F-2.2 ( $\theta = 0.1239$ ), F-2.5 ( $\theta = 0.0817$ ), F-2.6 ( $\theta = 0.1387$ ), F-2.8 ( $\theta = 0.0739$ ), F-2.10 ( $\theta = 0.0663$ ), F-3.3 ( $\theta = 0.0840$ ), F-3.4 ( $\theta = 0.1144$ ), F-3.6 ( $\theta = 0.0713$ ) y F-3.7 ( $\theta = 0.0840$ ). El valor medio de theta ( $\theta$ ) para todos los loci resultó significativo, con un valor de  $\theta = 0.0968$  ( $P = 0.0004$ ), indicando que un 9.68% de la variabilidad total observada es atribuible a divergencia poblacional. Los valores obtenidos presentan una desviación estándar total de 0.0132 y un intervalo de confianza del 95% (Tabla 7). De igual forma y como era de esperarse, la estimación de la subdivisión poblacional utilizando los valores de  $G_{ST}$ , generó una gran cantidad de valores significativos (82.5%) ya que las estimaciones de subdivisión resultaron mayores que los generados por theta; los valores de notable significancia ( $P = 0.00001$ ) se presentaron en los mismos loci que para theta, pero también en los loci, A-3.2, F-2.2, F-2.6 y F-3.4. El valor medio total de  $G_{ST}$  para todos los loci también fue significativo con un valor de  $G_{ST} = 0.1266$  ( $P =$

0.00001) indicando que con este estimador el porcentaje de variabilidad encontrada (12.66%) es atribuido a divergencia poblacional (Tabla 7). Debido a las propiedades de ambos índices de subdivisión poblacional, la estimación de  $G_{ST}$  presentó una evidente sobrestimación, sin embargo en general ambos estimadores aunque relativamente menores coinciden con el valor de subdivisión poblacional reportado para RAPD's ( $F_{ST} = 0.15$ ) por Díaz-Jaimes (1999).

**Tabla 7.** Estimaciones subdivisión poblacional  $\theta$  de Weir y Cockerham (1984), y  $G_{ST}$  (Nei, 1978) de 40 fragmentos amplificadas en 12 muestras de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico Nororiental, mediante 6 "primer", valores significativos \*P < 0.05, \*\* P < 0.01 y \*\*\* P < 0.001.

Frag.	$\theta$ Theta	$G_{ST}$	P*	P**	Frag.	$\theta$ Theta	$G_{ST}$	P*	P**
F-13.1	0.1829	0.2002	***	***	F-2.5	0.0817	0.1287	**	***
F-13.2	0.1776	0.1914	***	***	F-2.6	0.1387	0.1697	***	***
F-13.3	0.0404	0.0734	0.2387	**	F-2.7	0.0350	0.0706	0.3606	*
F-13.4	0.1579	0.1707	***	***	F-2.8	0.0739	0.1050	**	***
A-3.1	0.2217	0.2393	***	***	F-2.9	0.1472	0.1792	***	***
A-3.2	0.1234	0.1628	***	***	F-2.10	0.0663	0.0998	*	***
A-3.3	0.0423	0.0721	0.2039	**	A-13.1	0.2644	0.2718	***	***
A-3.4	0.0391	0.0785	0.2649	**	A-13.3	0.0357	0.0683	0.3429	*
A-3.5	0.0534	0.0820	0.0733	**	A-13.4	0.0081	0.0420	0.9932	0.2095
A-3.6	0.0194	0.0545	0.8248	0.0657	A-13.5	0.2359	0.2536	***	***
A-3.9	0.0355	0.0694	0.3479	*	A-13.8	0.1489	0.1728	***	***
F-1.1	0.0680	0.0974	*	***	A-13.11	0.0122	0.0443	0.9638	0.1718
F-1.2	0.0170	0.0499	0.8832	0.1030	A-13.12	0.3665	0.3624	***	***
F-1.3	0.0841	0.1057	**	***	F-3.1	0.0509	0.1154	0.0936	***
F-1.4	0.1705	0.2357	***	***	F-3.2	0.0190	0.0559	0.8352	0.0570
F-1.5	0.0307	0.0598	0.4807	*	F-3.3	0.0840	0.1257	**	***
F-1.7	- 0.0156	0.0273	1	0.5858	F-3.4	0.1144	0.1689	***	***
F-2.1	0.0347	0.0629	0.3684	*	F-3.5	- 0.0187	0.0096	1	0.9860
F-2.2	0.1239	0.1501	***	***	F-3.6	0.0713	0.0824	**	**
F-2.4	0.0314	0.0644	0.4600	*	F-3.7	0.0840	0.0877	**	**
					<b>TOTAL</b>	0.0968	0.1266	0.0004	0.0000

Con los datos obtenidos de cada primer para cada muestra se obtuvieron los valores pareados de Theta ( $\theta$ ) donde se observa que una proporción del 62% de las muestras presentan valores de subdivisión poblacional significativos  $P < 0.05$ , la mayoría de estos se presentaron entre las comparaciones realizadas para las poblaciones 95Clp1, 95CA, 96MICH y 96GC mismas que presentaron rangos de  $\theta = 0.0646$  a  $0.3116$ . Respecto a lo anterior, las muestras 95CA y 96MICH presentaron ambas una proporción del 100% de valores significativos entre las comparaciones, mientras que 96GC y 95Clp1 obtuvieron el 90.9 y 81.8% respectivamente. Se observó también que las comparaciones entre las muestras con mayor grado de divergencia, presentan por su ubicación geográfica diferenciación en sentido latitudinal, tal es el caso de 96MICH-96GC ( $\theta = 0.3116$ ) y 96MICH-96Nay ( $\theta = 0.1989$ ) teniendo que éstas se encuentran cercanas a la costa pero con una sustancial diferencia latitudinal. En el caso de la comparación entre las muestras 96MICH-95CA ( $\theta = 0.2588$ ) y 94LCY13-96GC ( $\theta = 0.2180$ ) se observaron valores altos de significancia y de subdivisión poblacional en ambas comparaciones coincidiendo con el hecho de que las localidades se encuentran alejadas entre si, en el primer caso la mayor distancia se presenta de forma latitudinal mientras que en la segunda comparación las muestras están separadas en ambas magnitudes (latitudinal y longitudinal) (Tabla 8).

Al comparar los valores significativos del análisis de homogeneidad de frecuencias con los valores de significancia de subdivisión poblacional ( $\theta$ ) por loci se encontró que el 91.6% de los valores coinciden, evidenciando así que más del 50% de los loci que originan divergencia poblacional presentan heterogeneidad en sus frecuencias.

IZT.

De la misma forma al realizar la comparación de ambos análisis para pares de muestras se obtuvo que el 84.8% de valores significativos son coincidentes para los dos análisis, teniendo que los pares de muestras con mayor heterogeneidad son los que presentan los índices de subdivisión poblacional más altos.



U.N.A.M. CAMPUS

**Tabla 8.** Valores del estimador theta ( $\theta$ ) entre pares de muestras de atún aleta amarilla del Pacífico Nororiental, por debajo de la diagonal y por arriba valores de significancia (P) del estimador, \* valores significativos,  $P < 0.05$ .

	94 FCY	94 LCY13	95 Clp1	95 CA	96 MICH	96 GUE	96 IR	96 BCS	96 Nay	96 GC	97 LCY20	97 Clp2
94FCY	*****	0.0920	0.0325*	0.0119*	0.0219*	0.1336	0.1782	0.1532	0.0472*	0.0040*	0.1086	0.1490
94LCY13	0.0473	*****	0.0793	0.0028*	0.0489*	0.0692	0.0123*	0.0401*	0.0071*	0.0002*	0.0634	0.0551
95Clp1	0.0993*	0.0669	*****	0.0342*	0.0027*	0.1184	0.0342*	0.0494*	0.0364*	0.0028*	0.0307*	0.0305*
95CA	0.1090*	0.1536*	0.1019*	*****	0.0001*	0.0078*	0.0053*	0.0085*	0.005*	0.0022*	0.0086*	0.0106*
96MICH	0.0875*	0.0646*	0.1957*	0.2588*	*****	0.0112*	0.0032*	0.0066*	0.0005*	0.0000*	0.0115*	0.0148*
96GUE	0.0375	0.0550	0.0530	0.1217*	0.1071*	*****	0.1275	0.3493	0.0721	0.0024*	0.0601	0.1544
96IR	0.0302	0.1043*	0.0974*	0.1338*	0.1444*	0.0387	*****	0.0577	0.1394	0.0059*	0.0769	0.0634
96BCS	0.0340	0.0702*	0.0839*	0.1191*	0.1227*	0.0146	0.0600	*****	0.0790	0.0135*	0.1554	0.0973
96Nay	0.0656*	0.1206*	0.0951*	0.1359*	0.1989*	0.0539	0.0364	0.0514	*****	0.1053	0.0482*	0.0132*
96GC	0.1378*	0.2180*	0.1933*	0.1613*	0.3116*	0.1534*	0.1259*	0.1015*	0.0450	*****	0.0040*	0.0012*
97LCY20	0.0429	0.0574	0.1015*	0.1188*	0.1062*	0.0589	0.0520	0.0335	0.0650*	0.1374*	*****	0.1310
97Clp2	0.0347	0.0613	0.1017*	0.1124*	0.0989*	0.0338	0.0574	0.0458	0.1023*	0.1745*	0.0380	*****

Los valores de distancia genética de Nei (1972) entre pares de muestras se ubicaron en un rango de 0.0319 a 0.2504, donde los valores más bajos se presentaron entre las poblaciones 96BCS-96GUE ( $D = 0.0319$ ) y 96Nay-96GC ( $D = 0.0375$ ) las cuales se ubican cerca de la costa, mientras que los valores más altos para las poblaciones 96MICH-96GC ( $D = 0.2504$ ) y 95CA-96MICH ( $D = 0.2181$ ) que están alejadas de las muestras anteriores, en el primer casos ambas muestras se encuentran cercanas a la costa y el segundo casos se encuentran alejadas entre si, ya que una muestra pertenece a la región intermedia y la otra cercana la costa, lo anterior coincide igualmente con los análisis de homogeneidad de frecuencias y subdivisión poblacional (Tabla 9).

**Tabla 9.** Estimaciones de distancia genética de Nei (1972) por debajo de la diagonal y por arriba de ésta los valores de similitud Nei (1972); entre 12 muestras de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico Nororiental obtenidas del análisis de RAPD's

	94 FCY	94 LCY13	95 Clp1	95 CA	96 MICH	96 GUE	96 IR	96 BCS	96 Nay	96 GC	97 LCY20	97 Clp2
94FCY	*****	0.9508	0.9071	0.9105	0.9240	0.9521	0.9568	0.9547	0.9378	0.9028	0.9490	0.9542
94LCY13	0.0505	*****	0.9376	0.8885	0.9453	0.9462	0.9105	0.9359	0.9073	0.8563	0.9451	0.9419
95Clp1	0.0975	0.0645	*****	0.9192	0.8499	0.9402	0.9086	0.9194	0.9200	0.8754	0.9080	0.9066
95CA	0.0938	0.1183	0.0842	*****	0.8041	0.9022	0.8920	0.9044	0.9006	0.9010	0.9055	0.9090
96MICH	0.0791	0.0562	0.1627	0.2181	*****	0.9106	0.8805	0.8990	0.8488	0.7785	0.9123	0.9166
96GUE	0.0490	0.0553	0.0616	0.1029	0.0937	*****	0.9513	0.9686	0.9462	0.8927	0.9382	0.9553
96IR	0.0441	0.0937	0.0958	0.1143	0.1272	0.0500	*****	0.9358	0.9574	0.9111	0.9425	0.9377
96BCS	0.0463	0.0662	0.0840	0.1005	0.1065	0.0319	0.0664	*****	0.9478	0.9278	0.9562	0.9469
96Nay	0.0643	0.0973	0.0834	0.1047	0.1639	0.0554	0.0436	0.0536	*****	0.9632	0.9394	0.9122
96GC	0.1022	0.1552	0.1331	0.1043	0.2504	0.1135	0.0931	0.0749	0.0375	*****	0.9050	0.8773
97LCY20	0.0524	0.0564	0.0965	0.0993	0.0918	0.0638	0.0593	0.0448	0.0625	0.0999	*****	0.9530
97Clp2	0.0469	0.0598	0.0981	0.0954	0.0871	0.0457	0.0643	0.0545	0.0919	0.1309	0.0481	*****

La correlación entre las matrices de distancia génica (Nei, 1972) y de distancia geográfica en millas náuticas entre pares de muestras realizada mediante la prueba de Mantel mostró una correlación no significativa ( $r = -0.0049$ ;  $P = 0.5255$ ), no obstante la obtención de un valor de correlación negativo representa un indicio de relación entre las variables, sin embargo dado que este valor se encuentra muy cercano a cero no es posible descartar que esta obedezca a factores aleatorios. De la misma forma, al realizar la misma prueba para evaluar la correlación de matrices de distancia geográfica con las estimaciones de flujo genético de número de migrantes por generación mediante ambos índices  $\theta$  ( $M_\theta$ ) y  $G_{ST}$  ( $MG_{ST}$ ) se obtuvieron correlaciones positivas no significativas.

Las estimaciones de flujo genético bajo el modelo de "aislamiento por distancia" descrito por Slatkin (1997) utilizando el índice de  $\theta$  ( $M_\theta$ ) generó valores positivos con un rango de valores de 0.55 a 16.87 y un valor de  $M_\theta$  promedio para todas las comparaciones de  $M_\theta = 3.399$  migrantes por generación. De las comparaciones entre muestras el 57.5% presentó valores de 0.55 a 3.0 migrantes por generación, el 31% para valores de 3.1 a 6.5, el 9.09% de 6.6 a 10 y el 1.5% para el valor más alto de 16.87. Los valores más altos se presentaron en las comparaciones de muestras, 96GUE-96BCS ( $M_\theta = 16.87$ ), localidades que se encuentran cercanas a la costa y entre sí; 96GUE-97Clp2 ( $M_\theta = 7.14$ ) muestras relativamente alejadas entre sí, (una

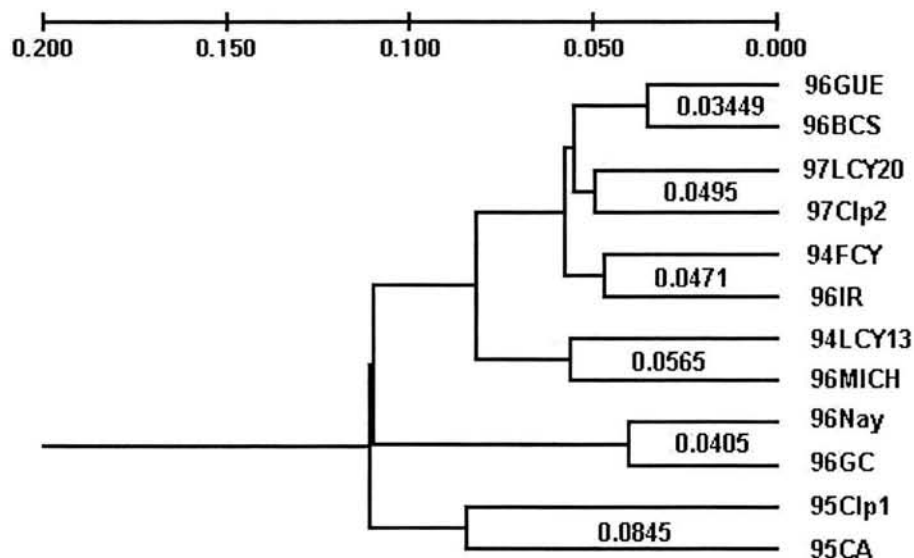


costera y una intermedia), las comparaciones 94FCY-96IR, ( $M_\theta = 8.02$ ), 94FCY-96BCS ( $M_\theta = 7.10$ ) y 97LCY20-96BCS ( $M_\theta = 7.21$ ) que presentan muestras alejadas entre sí, con una muestra cercana a la costa (96IR y 96BCS) y una oceánica (94FCY y 97LCY20).

Por su parte las estimaciones de flujo génico utilizando los valores de  $G_{ST}$  ( $MG_{ST}$ ), resultaron en una estimación similar aunque ligeramente más baja que el de  $M_\theta$ , con un promedio de  $MG_{ST} = 3.838$  y con algunas discrepancias en los valores de  $M$  entre las muestras. Presentando un rango de 0.93 a 9.21 migrantes por generación y teniendo que el 50% de las comparaciones mostraron valores de 0.9 a 3.0, el 40.9% de 3.1 a 6.5 y el 9.09% de 6.6 a 9.21. Los valores más altos para  $MG_{ST}$  se presentaron en las mismas muestras que para el índice de  $\theta$  96GUE-96BCS ( $MG_{ST} = 9.21$ ), 96GUE-97Clp2 ( $MG_{ST} = 6.67$ ), 94FCY-96IR ( $MG_{ST} = 7.03$ ), 94FCY-96BCS ( $MG_{ST} = 6.73$ ) y 97LCY20-96BCS ( $MG_{ST} = 6.89$ ); a excepción de la comparación 94FCY-97Clp2 ( $MG_{ST} = 6.71$ ) que no se presentó en las estimaciones anteriores y que contiene una muestra de la zona intermedia y una oceánica.

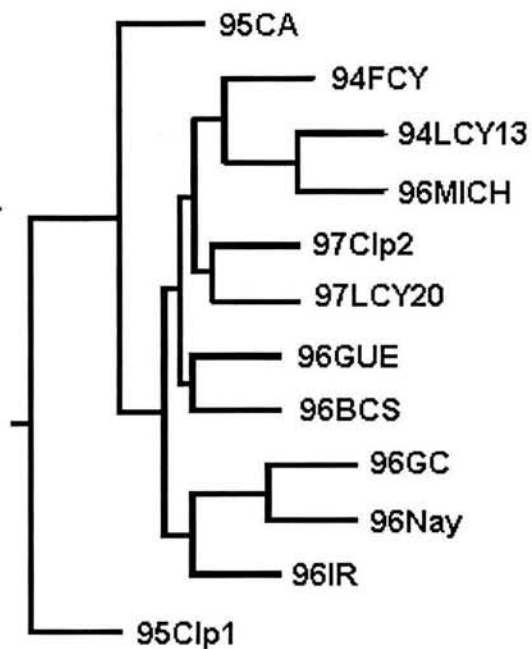
Al comparar ambas estimaciones  $M_\theta$  y  $MG_{ST}$  con los datos de distancia génica, se observó que los valores más pequeños de migrantes por generación coinciden de forma general con las muestras que presentan los valores más altos de distancia genética, y con los valores más indicativos de subdivisión poblacional; teniendo que una causa posible de divergencia entre las muestras, es el poco flujo génico entre éstas.

El dendrograma obtenido a partir de los valores de distancia genética ( $D$ ) de Nei (1972) mediante el análisis de agrupamiento por medio de UPGMA (Sneath y Sokal, 1963) que se muestra en la figura 12, presenta la formación de dos grupos; uno que asocia muestras de las tres regiones asignadas como costeras, oceánicas e intermedia, las agrupaciones se presentaron de la siguiente forma donde no se observa un patrón bien definido teniendo que la primera agrupación es formada por dos muestras costeras 96GUE-96BCS, al que se les une 97LCY20-97Clp2, estas son una costera e intermedia respectivamente, a las agrupaciones anteriores se unen muestras tanto costeras como oceánicas 94FCY-96IR y 94LCY13-96MICH. El segundo grupo lo constituyen dos agrupaciones, una por muestras costeras muy cercanas al interior del Golfo de California 96Nay-96GC; y otra de muestras ubicadas en una región intermedia 95Clp1 y 95CA, grupo que permanece separado de los anteriores.



**Figura 12.** Dendrograma obtenido mediante UPGMA, con base en las distancias genéticas de Nei (1972) entre localidades, que muestra el agrupamiento de las 12 muestras de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*). Los valores en el árbol corresponden a la distancia de las ramas.

De manera alterna se obtuvo un dendrograma con el método de Neighbor-Joining (N-J; Saitou y Nei, 1987) mediante el programa Phyllip (Felsenstein, 1995) que usa también datos de distancias génicas, pero que puede incorporar diferentes tasas evolutivas en diferentes linajes, y agrupa aquellas muestras que minimizan el total del largo del árbol. El dendrograma obtenido mediante N-J (Figura 13), muestra de manera más clara la formación de dos grupos, el primero con agrupaciones de localidades oceánicas y costeras como es el caso del agrupamiento formado por 94FCY-94LCY13-96MICH, al que se le unen muestras oceánica e intermedia 97LCY20-97Clp2 y por último muestras costeras 96GUE-96BCS. De igual forma que el dendrograma anterior se forma un grupo de muestras costeras, 96Nay-96GC-96IR y las muestras intermedias 96CA y 95Cpl1 se encuentran separadas de las demás agrupaciones, coincidiendo esto, con el dendrograma de UPGMA por ser las muestras que presentan mayor diferencias poblacionales.



**Figura 13.** Dendrograma obtenido mediante Neighbor-joinig a partir de las distancias génicas de Nei (1972) obtenidas de las frecuencias alélicas en los fragmentos amplificados mediante RAPD's de 12 poblaciones de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*).

## DISCUSIÓN

### Variación genética:

Las estimaciones de diversidad genética en el atún aleta amarilla expresadas en términos de heterocigosis media para los loci analizados, presentaron un rango amplio de valores ubicados de  $H_e = 0.2068$  a  $0.4970$ , en tanto que la estimación de heterocigosis total incluyendo todos los loci fue de  $H_T = 0.3694$ . Ambas estimaciones se ubican por arriba de los valores reportados para especies de peces pelágicos que utilizaron marcadores genéticos como aloenzimas, tal es el caso del valor para atún aleta amarilla ( $H = 0.063$ ) obtenido por Ward *et al.* (1994), al igual que para el caso del atún aleta azul (*Thunnus maccoyii*;  $H = 0.049$ ) obtenido por Elliott y Ward (1995), además de la estimación de Grewe *et al.* (1997;  $H = 0.065$ ) para la misma especie.

Algunos otros valores de heterocigosis mediante aloenzimas reportados para peces pelágicos como la sardina del Pacífico (*Sardinopus sagax*;  $H = 0.05$  a  $0.16$ ) y anchoveta (*Eugraulix mordax*;  $H = 0.75$ ), son presentados por Hedgecock *et al.* (1989) con rangos muy amplios, dentro de los que pueden ser ubicadas las estimaciones encontradas en este trabajo. Otros estudios realizados con marcadores nucleares nos permiten corroborar que los valores de heterocigosis obtenidos mediante RAPD's son altos, mostrando que los obtenidos aquí coinciden con el valor reportado por Díaz-Jaimes (1999) para atún aleta amarilla del Pacífico Nororiental mediante el mismo marcador ( $H = 0.3$ ), situación que a su vez resulta coherente con el hecho de que la mayor parte de las colectas analizadas corresponden con las de dicho estudio.

Los valores de diversidad genética esperada para el caso de las muestras se ubicaron en un rango de  $0.2833$  a  $0.4065$ , mientras que la estimación de heterocigosis total para las muestras fue de  $H_T = 0.3686$ . Estos valores son similares a los reportados mediante aloenzimas para poblaciones de especies de peces pelágicas como es el caso de cinco poblaciones de sardina del Pacífico con un valor de heterocigosis promedio de  $H = 0.10$  (Hedgecok *et al.*, 1989) y para atún aleta azul Grewe *et al.* (1997) que mediante aloenzimas reportan una heterocigosis promedio de  $H = 0.399$ . Sin embargo la estimación en el presente trabajo resulta menor al ser comparada con otros marcadores moleculares de mayor resolución como los VNTR's reportados por Galvin *et al.* (1995;  $H = 0.85$ ) en el bacalao (*Gadus morhua*) y son coincidentes con el valor reportado por Díaz-Jaimes (1999) para el atún aleta amarilla del Pacífico Nororiental mediante RAPD's ( $H = 0.3$ ).

Las muestras que presentaron estimaciones de heterocigosis bajas, mostraron también valores significativos en el análisis de homogeneidad de frecuencias alélicas

entre pares de muestras, de este último se observa que los valores más significativos ( $P \leq 0.0001$ ) se obtuvieron en comparaciones entre muestras cercanas a la costa (96GC, 96MICH y 96Nay) respecto de aquellas ubicadas en la zona oceánica, con excepción de la muestra 95CA que pertenecen a la región intermedia. Los valores bajos de heterocigosis en las muestras que presentan mayor heterogeneidad de frecuencias como es el caso de la muestra 95CA puede deberse a la presencia de ligeras diferencias en las proporciones genotípicas entre cardúmenes, y a la posibilidad de que dichas muestras no estén formadas por un solo cardúmen, pues es posible la mezcla de estos mediante movimientos de individuos hacia el sur, que provienen del norte (Blunt y Messersmith, 1960; citado por Joseph *et al.*, 1964; Schaefer *et al.*, 1961), dichos registros coinciden con el mes de captura de la muestra, teniendo que ésta pudo conformarse por organismos que pertenecían a diferentes cardúmenes.

Las diferencias entre los cardúmenes pueden ser posibles debido a que ha sido reportada fidelidad al cardumen de origen en el atún aleta amarilla (Klimley y Holloway, 1999), además de que por lo general la formación de estos ocurre con base en la talla, lo que podría ocasionar cierta homogeneidad genética de estos, de tal manera que, en el caso de que existan diferencias entre clases de edad y si la muestra incluye cardúmenes de talla ó edad distintas, es posible esperar fluctuaciones importantes en las estimaciones de diversidad genética entre muestras. Aunado a lo anterior el efecto de la pesca sobre las frecuencias genotípicas de los reproductores hace posible generar alteraciones importantes en el tamaño efectivo de población modificando la variación genética del cardumen.

Fue observada heterogeneidad en las frecuencias de los loci analizados, esta puede deberse a diferencias entre muestras de las diferentes regiones costeras, intermedias y oceánicas; no obstante se observa que al realizar comparaciones entre las cuatro muestras costeras con mayor heterogeneidad respecto de las oceánicas, estas presentaron diferencias significativas entre si con excepción de la comparación de 96GC-96Nay, por lo que dicha tendencia de diferenciación con base en la distribución de las frecuencias genotípicas, no representa suficiente evidencia. Muy probablemente la homogeneidad entre muestras costeras como es el caso de 96GC-96Nay puede atribuirse a la gran cercanía entre estas, y a los registros de movimientos de atunes cercanos a la costa, los cuales han sido marcados en regiones del sur y se capturaron en la zona norte hasta llegar al Golfo de California (Joseph *et al.*, 1964).

Las variaciones temporales en las frecuencias alélicas es otro elemento importante que puede determinar diferencias entre las muestras como se observa en la tabla 2, los años de captura son distintos, esto permite observar que en el caso de las comparaciones entre 96GC-96Nay y 95CA y 95Clp1, que fueron capturadas en el mismo año (94 y 95 respectivamente) no existen diferencias de heterogeneidad entre ellas, es posible que estas muestras pudieran haber presentado mayor mezcla de organismos, que aquellas muestras que no fueron capturadas en el mismo año, lo que pudiera ser resultado de variaciones temporales importantes en las frecuencias genéticas. No obstante al observar los análisis hay muestras de años de captura distintos que son más homogéneas entre si como el caso de los pares de muestras 94FCY-97Clp2 y 94LCY13-97Clp2, que fueron capturados en 1994 y 1997 respectivamente, lo anterior aunado a la falta de réplicas temporales en el muestreo, no permite evaluar variabilidad temporal, sin embargo permite considerar el aspecto espacio temporal importante en la existencia de diferencias que en un momento dado puede seguir una tendencia de diferenciación entre aquellas muestras de ubicación costera respecto a las oceánicas, situación que corresponde con los reportes de que los atunes se dispersan hacia zonas más cercanas a la costa o a islas (en este caso a las Islas Clipperton) para reproducirse y desovar (Gonzalez *et al.*, 1989).

Con respecto al análisis de homogeneidad entre pares de muestras mostró que más del 45% de las comparaciones presentaron valores significativos de heterogeneidad de frecuencias. Las muestras que presentan el mayor número de valores significativos con respecto del resto de estos generalmente corresponden a aquellas que se encuentran cercanas a la costa, entre las que encontramos a 96GC, 96Nay y a 96MICH con excepción de 95CA que pertenece a las muestras consideradas como de la región intermedia.

La presencia de diferencias entre muestras relativamente más alejadas de la costa como 96LCY13-95CA permite definir cierta tendencia de diferenciación en un sentido longitudinal, en coincidencia con lo encontrado por Díaz-Jaimes (1999) ya que lejos de encontrar una tendencia de diferenciación latitudinal, el grado de división poblacional se inclina más a la persistencia en diferencias entre poblaciones cercanas y lejanas a la costa.

Las diferencias presentes entre localidades cercanas a la costa respecto de aquellas separadas longitudinalmente son apoyadas por reportes de movilidad de los atunes que muestran la existencia de cuatro grupos discretos y homogéneos con movilidad limitada en el Pacífico Oriental (Fink y Bayliff, 1970); uno en la costa de Baja

California, otro en el Golfo de California, otro en las Islas Revillagigedo y un último desde las Islas Marías hasta el norte de Chile.

Como ya se mencionó anteriormente, es importante considerar las diferencias de frecuencias alélicas entre distintas clases de edad, mismas que pueden representar un motivo de discrepancias dentro de los análisis en la diferenciación genética. Tales diferencias han sido reportadas en algunas especies de telosteos, Smith (1994) ha reportado variaciones en las frecuencias alélicas entre muestras de diferentes edades para periodos de tiempos cortos. En el caso del atún es clara la segregación de diferentes tallas de organismos en relación a la columna de agua de acuerdo a la temperatura, esto podría estar originando discrepancias dentro de las muestras, si consideramos que puede darse el caso que el muestreo halla incluido organismos de diferentes tallas y por lo tanto diferentes proporciones genotípicas, situación que puede estar generando alteraciones en la composición genética de las muestras.

Así mismo la época de captura es otro factor que puede estar influyendo en la obtención de una talla específica de organismos como ha sido reportado por Punsly y Deriso (1991) y por Wild (1994) quienes encontraron que las capturas se componían por tallas específicas y que la abundancia de estas varía de una época a otra, de acuerdo a las condiciones climáticas. Por lo anterior las diferencias encontradas pueden ser explicadas por la captura de ciertos genotipos que estén representados en tallas específicas.

### **Subdivisión Poblacional**

Las estimaciones de los índices de subdivisión poblacional total para los diferentes loci mostraron ambos valores significativos ( $\theta = 0.0968$ ,  $P = 0.0004$  y  $G_{ST} = 0.1266$ ,  $P = 0.0000$ ). De manera individual, la mayoría de los loci presentaron valores significativos y coincidentes con el análisis de homogeneidad de frecuencias, los loci con los valores más altos de heterogeneidad presentaron los valores más altos de subdivisión poblacional con rangos de 36.6% al 8.4% de diferencias genéticas que pueden ser atribuidas a los diferentes loci analizados, corroborando así que las diferencias pueden estar asociadas a algún factor espacio-temporal y/o temporales, aunque no es posible descartar la influencia de factores ambientales y/o de selección sobre algunos de los loci que están presentando valores significativos de homogeneidad y subdivisión poblacional.

Los valores de subdivisión poblacional obtenidos aquí son mayores a los reportados por Ward *et al.* (1994; 0.029) para atún aleta amarilla *Thunnus albacares* en diferentes muestras a lo largo del Pacífico; Grewe *et al.* (1997) obtuvieron un valor

de 0.006 para atún aleta azul *Thunnus macoyii*, así como por algunos estudios que utilizan marcadores nucleares tales como VNTR's en el trabajo de Galvin *et al.* (1995, 0.03) para el bacalao *Gadus morhua* y el reportado por Smith *et al.* (1997; 0.02) para *Hoplostethus atlanticus* mediante aloenzimas. Sin embargo resulta menor al de la subdivisión poblacional reportada por Ward *et al.* (1997) del locus *GPI-F\** (0.118) entre muestras de atún aleta amarilla del Pacífico Centro-Occidental y Oriental y también es menor al valor reportado por Diaz- Jaimes (1999;  $F_{ST} = 0.15$ ) en 4 loci de RAPD's, en las mismas muestras de atún aleta amarilla del Pacífico Oriental analizadas aquí. De igual forma resultaron mayores a los reportados por Scoles y Graves (1993) para diferentes muestras de aleta amarilla en el Océano Pacífico, analizados mediante mtDNA (0.025) y al valor de Ward *et al.* (1994) para un estudio similar en la misma especie (0.023) mediante RFLP's en mtDNA.

Las comparaciones del estimador de subdivisión entre pares de muestras, coinciden en un 84% con aquellas que presentaron valores significativos en el análisis de homogeneidad de frecuencias. Los índices mas altos de subdivisión poblacional entre pares de muestras se presentaron en las mismas comparaciones que mostraron mayor heterogeneidad en sus frecuencias, a excepción de la muestra 95Cpl1 ubicada en la región intermedia. Esto apoya las diferencias entre muestras cercanas a la costa y de las intermedias y oceánicas. Sin embargo al encontrar diferencias entre muestras que corresponden a la misma región o cercanas entre si, las discrepancias complican la interpretación de los resultados, lo cual puede en un momento dado corresponder a diferencias que se estén generando por variaciones temporales de las frecuencias genéticas o variación de estas respecto a la edad o sexo de los organismos analizados.

Las comparaciones de los análisis entre pares de muestras tanto del estimador de subdivisión como el de homogeneidad de frecuencias permiten considerar la presencia de grupos de poblaciones con cierto grado de divergencia mostrando que estas diferencias están relacionadas en mayor grado con la separación longitudinal de estas con respecto del factor latitudinal. En relación a lo anterior existen trabajos de marcaje y recaptura en el Pacífico Oriental que parecen confirmar algunas de las conclusiones obtenidas aquí, Blunt y Messersmith (1960; citado por Joseph *et al.*, 1964) y Shaefer *et al.* (1961) encontraron que existe una relación más estrecha entre las poblaciones cercanas a la costa respecto de aquellas alejadas de esta, aunque puede existir el suficiente flujo genético para que la divergencia entre las poblaciones no sea tan notoria.



### **Distancia génica:**

Las estimaciones de distancia de Nei (1972) se ubican en un rango de 0.0319 a 0.2504 mismos que concuerdan con los valores de distancia reportados por Díaz-Jaimes (1999) para atún aleta amarilla mediante 4 loci de RAPD's (0.0 a 0.231) en el Pacífico Oriental.

Los valores de distancias más bajos fueron para las comparaciones entre las muestras 96BCS-96GUE ( $D = 0.0319$ ) y 96Nay-96GC ( $D = 0.0375$ ) mismas que se localizan cerca de la costa, mientras que los valores más altos corresponden a las muestras 96MICH-96GC ( $D = 0.2504$ ) también cercanas a la costa y entre 95CA-96MICH ( $D = 0.2181$ ) que son consideradas como costeras e intermedias respectivamente. Los valores menores de distancia entre muestras pueden deberse a la cercanía de estas y a que dicha similitud corresponda a los movimientos a lo largo de la costa, registrados de Sur a Norte, no obstante se presentan discrepancias entre muestras que a pesar de ser costeras presentan valores menores con respecto de muestras de ubicación intermedia u oceánica como en el caso de 96MICH y 95CA situación que a su vez representa un indicio de movimientos de sentido longitudinal, lo que posiblemente se deba a que la zona de desove y reproducción de estas muestras halla sido la región de las Islas Clipperton y no la zona costera.

En los dendrogramas obtenidos a partir de las distancias genéticas, se observa la formación de dos grupos los cuales no permiten determinar un patrón de agrupamiento relacionado con la localización de las muestras, sin embargo se observa que un grupo está formado por muestras consideradas como costeras e intermedias y algunas oceánicas; un segundo grupo se encuentra formado por muestras costeras e intermedias, las cuales corresponden a las muestras con mayor diferenciación en los análisis realizados. Es claro que en este análisis se ven reflejadas las diferencias presentes entre las muestras del segundo grupo, pero también se puede observar la discrepancia del primer grupo en donde no se puede definir un patrón específico de las muestras, sin embargo de ambos dendrogramas el que presenta un patrón más definido es el obtenido por Neiborg-joining en donde se presenta una agrupación más evidente de las muestras que se encuentran cercanas a la costa.

Podría sugerirse que de acuerdo a los agrupamientos observados, las muestras se ubican en asociación con rutas de migración y movimientos de aguas oceánicas confirmando que la estructura poblacional del atún aleta amarilla es compleja, que puede ser que esta zona intermedia esta más influenciada por aspectos oceanográficos que determinan patrones de migración específicos asociados a la

búsqueda de zonas de alimentación y zonas de desove ubicadas frente a las costas del Pacífico Mexicano y al rededor de las islas Clipperton y Revillagigedo.

De los diferentes análisis de subdivisión aplicados se logra apreciar la presencia de un ligero patrón de divergencia entre las muestras cercanas a la costa y aquellas alejadas, no obstante y dadas las inconsistencias encontradas que se reflejan en una falta de correlación significativa entre los valores de distancia y las estimaciones de flujo génico con la distancia geográfica, se puede pensar que la relación entre las poblaciones cercanas y lejanas de la costa pueden ser posibles, en menor cantidad que la encontrada entre muestras cercanas entre si, esto indica que aún poblaciones separadas por más de 1000 millas náuticas pueden establecer relación; pero solo esto se da en algunos casos ya que existen índices significativos de subdivisión poblacional entre estas localidades (95CA-97LCY20 y 95CA-94FCY)

La relación entre atunes de localidades alejadas puede ser establecida por su capacidad de dispersión y a la posible influencia de los patrones de corrientes en sus movimientos, como son la Contracorriente del Ecuador y la Corriente de California, permitiendo que esos se mezclen en zonas específicas como aquellas zonas de alimentación para los juveniles (surgencias) y de zonas de desove, localizadas entorno a las Islas Revillagigedo y en regiones cercanas a la costa del Pacífico Mexicano (González y Ramírez, 1989; Wild, 1994a).

**Falta página**

**N° 52**

---

## REFERENCIAS

- Appleyard S.A., Grewe P.M., Innes B.H., and Ward R.D. (2001) Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western Pacific Ocean, inferred from microsatellite loci. *Marine Biology* 139: 383-393.
- Aubert H. and Lightner D.V. (2000) Identification of genetic populations of the Pacific blue shrimp *Penaeus stylirostris* of the Gulf of California, Mexico. *Marine Biology* 137: 875-885.
- Ayala F.J. y Kiger Jr. J.A. (1989) *Genética moderna*. 3ª edición. Ediciones Omega S.A. Barcelona, España. pp
- Avise J.C., Reeb C.A., and Saunders N.C. (1987) Geographic population structure and species differences in mitochondrial DNA of mouthbrooding marine catfishes (Ariidae) and denersal spawning toadfishes (Batrachoididae). *Evolution* 41:991-1002.
- Avise J.C. (1994) *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall, New York 511pp.
- Bardakci F. and Skibinski D.O.F. (1994) Application of the RAPD's technique in tilapia fish: species and subspecies identification. *Heredity* 73:117-123.
- Bouchon D., Souty-Grosset C. and Raimond, R. (1994) Mitochondrial DNA variation and markers of species identity in two penaeid shrimp species *Penaeus monodon* Fabricius and *P. Japonicus* Bate. *Acuaculture* 127, 131-144.
- Chow S. and Ushiyama H. (1995) Global population structure of albacore (*Thunnus alalunga*) inferred by RFLP analysis of the mitochondrial ATPase gene. *Marine Biology*. 123: 39-45.
- Collette B.B y Nauen C.E. (1983) *FAO species catalogue, Vol. 2, Scombrids of the World. An annotated and illustrated catalogue of tuna, mackerels, bonitos and related species known to date*. *FAO Fish. Synop.* Rome, 2 (125): 137p.
- Comisión Inter-Americana del Atún Tropical. (1999) Informe anual de la comisión Interamericana del Atún Tropical. Annual Report I-ATTC, (1997).
- Davidoff E.B. (1963) Size and year class composition of catch, age and growth of yellowfin tuna in the eastern tropical pacific ocean, 1951-1961. *Bulletin I-ATTC vol.* 8 (4): 199-251.
- Díaz-Jaimes P. (1999) Variación Aloenzimática y de RAPD's en el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico Nororiental. Tesis Doctorado Facultad de Ciencias UNAM.

- Dinesh K.R., Lim, T.M., Chua, K.L., Chan, W.K. and Phang V.P.E. (1993) RAPD analysis; An efficient method of DNA fingerprinting in Fishes. *Zoological Science* 10:849-854
- Dobzhansky T., Ayala F.J., Stebbins G.L. y Valentine J.W. (1993) *Evolución*. Omega, Barcelona.
- Elliott N.G. and Ward R.D. (1995) Genetic relationships eight species of pacific tuna (Teleostei: Scombridae) inferred from allozyme analysis. *Mar. Freshwater Res.* 46, 1021-1032.
- FAO/PNUMA (1984) Conservación de recursos genéticos de los peces: problemas y recomendaciones. Informe de la consulta de expertos sobre los recursos genéticos de los peces. FAO Doc. Téc. de Pesca No. 217:42 p.
- Fink B.D. and Bayliff. (1970) Migrations of yellowfin and skipjack tuna in the eastern pacific ocean as determined by tagging experiments, 1952-1964. *Bulletin I-ATTC* 15(1): 1-227.
- Fu Yu K., Deynze A.V., and Pauls K.P.. (1993), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Methods in plant molecular biology and biotechnology.* 64 (2) 287-301
- Galvin, P., Sadusky T., McGregor D. And Cross T. (1995) Population genetics of Atlantic cod using amplified single locus minisatellite VNTR analysis. *Journal of Fish Biology* 47 (supplement A) 200-208.
- García D.K. and Benzie J.A.H. (1995) RAPD's markers of potencial use in penaeid prawn (*Paeneus monodon*) breeding programs. *Acuaculture* 130:137-144.
- González R.P. and Ramírez R.M. (1989) Zonas y épocas de reproducción del atún aleta amarilla *Thunnus albacares* (Bonnaterre, 1788) en el Pacífico Mexicano. *Inv. Mar. CICIMAR*, 4 (2) 203-210
- Graves J.E., Ferris S.D. and Dizon E. (1984) Close genetic similarity of atlantic and pacific skipjack tuna (*Katsuwonus pelomis*) demonstrated with restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. *Marine Biology.* 79: 315-219.
- Grewe P.M., Elliott N.G., Innes B.H. and Ward R.D. (1997) Genetic population structure of southern blufin tuna (*Thunnus maccoyii*). *Marine Biology* 127: 555-561.
- Harris H. (1966) Enzyme polymorphism in man. *Proc. R.Soc. Ser. B.* 164: 298-310.
- Hartl D.L. and Clark A.G. (1989) *Principles of population genetics.* 2ª ed. Sinauer Associates INC. Sunderland, Massachusetts.
- Hartl D.L. (1988) *A primer of population genetics* 2ª ed. Sinauer Associates INC. Sunderland, Massachusetts.

- Hedgecok, D., Hutchinson E.S., Li G. Sly F.L. and Nelson K. (1989) Genetic and Morphometric variation in the pacific sardine, *Sardinops sagax caerulea*: comparisons and contrasts with historical data and with variability in the northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin, 87:653-671.
- Hedrick P.W. (2000) Genetics of populaton. 2<sup>a</sup> ed. Jones and Bartlett Publishers Sudbury Massachusetts.
- Heist E.J. and Gold J.R. (2000) DNA Microsatellite loci and genetic structure of Red Snapper in the Gulf of Mexico. Transactions of the American Fisheries Society. 129: 469-475.
- Hellberg M.E. (1994) Relationships between inferred levels of gene flow and geographic distance in a philopatric coral, *Ballanophyllia elegans*. Evolution 48:6 1829-1854.
- Ishii T. (1968) On population parameters of yellowfin and bigeyes tunas in the Pacifi. In proceeding of the japanese tuna conference (Showa 42 nendo), Shimizu pp72-76.
- Joseph J.G., Alverson, F.G., Fink, B.D. and Davidoff, E.B. (1964) A review of the population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the eastern Pacific Ocean. Bulletin I-ATTC, La Jolla California, Vol. 9 (2):53-112.
- Karl S.A., Bowen B.W. and Avis J.C. (1992) Global Populatin Genetic Structure and Male-Medianted gene flow in the green turtle (*Chelonia mydas*): RFLP analyses of anonymous nuclear loci. Genetics. 131, 163-173.
- Klimley A.P. and Holloway C.F. (1999) School fidelity and homing synchronicity of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. Marine Biology 133: 307-317.
- Le Corre V., Dumolin-Lapégue S. and Kremer. (1997) Genetic variation at allozyme and RAPD loci in sessile oak *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: the role of history and geogrephy. Molecular Ecology 6: 519-529.
- Lewontin R.C. and Hubby J.L. (1966) A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populati6n of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 54: 595-609.
- Linderberg G.U., (1971) Fishes of the word . A key to families and a checklist. New York, John Wiley and Sons, 545p.
- Lynch M. and Milligan B.G. (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markes. Molecular Ecology 3: 91-99
- Matsumoto W.M. (1958) Description and distribution of larvae of four species of tuna in central Pacific waters. Fish. Bull.U.S. Fish Wildl. Serv. 58(128):30-72.

- Mettler, L.E. and Gregg, T.G. (1982) *Genética de las Poblaciones y evolución*. UTEA, México. D.F.
- Nei M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70: 3321-3323.
- Nei M. (1972) Genetic distance between population. *Am. Nat.* 106 (949): 283-292
- Ortega-García S. y Lluch C.S. (1996) Distribución de la abundancia del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y su relación con la concentración de pigmentos fotosintéticos medidos por satélite en aguas al Sur de México. *Investigaciones Geográficas Boletín especial No. 4.*
- Powers D.A., Lauermant T., Crawford D., Smith M., Gonzalez-Villaseñor I. and Michele L.D. (1991). The evolutionary significance of genetic variation at enzyme synthesizing loci in the teleost *Fundulus heteroclitus*. *Journal of Fish Biology.* 39 suplement "A" 169-184.
- Punsly R.G. and Deriso R.B. (1991) Estimación de abundancia del atún aleta amarilla *Thunnus albacares*, por grupos de edad y regiones en el Océano Pacífico Oriental. *Bulletin I-ATTC. La Jolla California, Vol. 20 (2):* 109-131
- Raymond, M.L. and Rousset F. (1995) An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283.
- Richards F.J. and Simmons D.C. (1971) Distribution of tuna larvae (Pisces, Scombridae) in the northwestern Gulf of Guinea and off Sierra Leone. *Fishery Bulletin. NOAA-NMFS.* 88 (3): 607-609.
- Richardson B.J. (1983) Distribution of protein variation in Skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) from the Centro and South-western Pacific. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 34, 231-251.
- Rodríguez-Cruz M.C. (1988) Los recursos pesqueros de México y sus pesquerías. *Secretaría de pesca.*
- Sambrook L., Fritsch E.F. and Maniatis T. (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, NY.
- Saitou N. and Nei M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- Semarnap, (1998) Carta perquera, <http://www.semarnap.gob.mx>
- Schaefer M.B Chatwin B.M. and Broadhead G.C. (1961) Tagging and recovery of tropical tunas, 1955-1959. *Bulletin I-ATTC. La Jolla California, Vol. 5 (5)* 341-416.
- Schaefer K.M. (1989) Morphometric analysis of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from the eastern Pacific Ocean. *Bulletin I-ATTC. La Jolla California, Vol. 19 (5):* 389-427.

- Schaefer K.M. (1992) Una evaluación de la variación geográfica y anual en las características morfométricas y conteos de branquiespinas del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Océano Pacífico. Bulletin I-ATTC. La Jolla California, Vol. 20 (3): 144- 163
- Schaefer K.M. (1998) Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. Bulletin I-ATTC. La Jolla California, Vol. 21 (5): 205-249.
- Schaefer K.M. (1999) Estudio comparativo de algunas características morfológicas de los atunes aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y patudo (*Thunnus obesus*). Bulletin I-ATTC. La Jolla California, Vol. 21 (7): 517-525
- Scoles D.R. and Graves J.E. (1993) Genetic analysis of the population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from the Pacific Ocean. Fish. Bull. 91:690-698.
- Shaklee, J.B., Tamaru C.S. and Waples R.S. (1982) Speciation and evolution of marine fishes studied by electrophoretic analysis of proteins. Pacific Science 36(2):141-157.
- Shaklee J.B. Brill R.W. and Acerra R. (1983) Biochemical genetics of Pacific blue marlin, *Makaira nigricans*, from hawaiian waters. Fishery Bulletin. 81 (1): 85-90.
- Sharp G.D. (1983) Tuna fisheries elusive stock boundaries and illusory stock concepts. Collect. Vol. SCL. PAA. ICCAT/RECL. DOC. SCL. CICTA/COLECC DOC. CIENT. CICAA. Vol.18: 3, 812-829.
- Shaw C.R. (1965) Electrophoretic Variation in enzymes. Science. Vol 149:936-943.
- Silva E.P. and Russo C.A.M. (2000) Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics. Hidrobiologia 420: 119-135.
- Slatkin M. and Hudson R.R. (1991) Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. Genetics 117: 149-153.
- Slatkin M. (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium population. Evolution 47(1): 264-279.
- Smith P.J. (1994) Genetic diversity of marine fisheries resources. Possible impacts of fishing. FAO. Fisheries Technical. 344/11 Rome, FAO.
- Smith P.J., Benson P.G. and McVeagh S.M. (1997) A comparacion of three genetic methods used for stock discrimination of orange roughy, *Hoplostethus atlanticus*: allozymes, mitochondrial DNA, and Random amplified polymorphic DNA. Fishery Bulletin 95:800-811.
- Stranburg D.W. (1960) Estimates of larval tuna abundance in the Central Pacific. Fish. Bull U.S. Fish. Wildl.Serv. 60 (167):231-255.



- Suzuki Z. (1994) A review of the biology and fisheries for yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western and central Pacific Ocean. Interactions of Pacific tuna fisheries. FAO Fisheries Technical Paper. Vol 2(336/2) Roma.
- Suzuki Z., Tomlinson P.K. and Honwa M. (1978) Population structure of Pacific Yellowfin tuna. Bull. I-ATTC, La Jolla California, 17 (5): 273-441.
- Swofford, D.L. and G.J. Olson. (1990). Phylogeny Reconstruction. In: Hillis, D.M. and C. Moritz (eds). Molecular Systematics. Sinaur Associates Inc., Sunderland.
- Todd C.D., Walker A.M., Wolff K., Northcott S.J., Walker A.F., Ritchie M.G. Hoskins R., Abbott R.J., and Hazon N. (1997) Genetic differentiation of populations of copepod sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer) ectoparasitic on wild and farmed salmonids around the coasts of Scotland: Evidence from RAPD markers. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 210:251-274.
- Tomlinson P.K., Tsuji S. and Calkins T.P. (1992) Estimación de las frecuencias de talla de atun aleta amarilla (*Thunnus albacares*) capturado por artes comerciales en el Océano Pacífico Oriental. Bull. I-ATTC, La Jolla California, 20 (6): 370-398
- Ueyanagi S. (1966) On the pigmentation of larval tuna and its usefulness in species identification. Rep. Nankai Reg. Fish. Lab. 24: 41-48.
- Ueyanagi S. (1969) Observations on the distribution of tuna larvae in the Indo-Pacific Ocean with emphasis on the delineation of the spawning areas of albacore, *Thunnus alalunga*. Bull. Far Seas Fish. Res. Lab., (2): 177-256.
- Ward, R.D. (1995) Population genetics of tuna. Journal of Fish Biology 47 (Supplement A): 213-232.
- Ward, R.D., Elliott, N.G., Innes, B.H. Smolenski, A.J. and P.M.Grewe. (1997) Global population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, inferred from allozyme and mitochondrial DNA variation. Fishery Bulletin 95 (3): 566-575.
- Ward, R.D., Woodwark M. and Skibinski D.O.F., (1994) A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. Journal of Fish Biology. 44,213-232.
- Weir B.S and Cockerham C.C. (1984) Estimating F statistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 1358-1370.
- Welsh, J. and McClalland M. (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucl. Acids. Res., Vol. 18 No. 24:7213-7218.
- Wild, A., (1994 a) A review of the biology and fisheries for yellowfin tuna, *T albacares*, in the Eastern Pacific Ocean. In: Interactions of Pacific Tuna Fisheries. FAO Fish. Tech. Pap. 336/2. Rome.

- Wild, A., (1994 b) Una evaluación de los procedimientos de muestreo de frecuencia de talla y del análisis subsecuente de los datos de atún aleta amarilla capturado con res de cerco en el Océano Pacífico Oriental. Bulletin I-ATTC. La Jolla California, Vol. 21 (1): 22-70.
- Willams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. and Tingey S.V. (1990) DAN Polymorphisms amplified by adbitriry primersare useful as genetic markers. Nucleic Acids Research. Vol. 18 No. 22: 6531-6535.
- Wolfus G.M., Garcia D.K. and Alcivar-Warren A. (1997), Aplication of the microsateellites technique for analysis genetic diversity in shrimp breeding programs. Aquaculture 152: 35-47.
- Wright S. (1965) The interpretation of population structure by F-statistctics with special regard to systens of mating. Evolution 19:395-420.
- Zim S.H. (1978) The Golden Book Enciclopedia of natural Science. Golden Press Inc. Tomo 1. 112 pp.
- Yen F.C and Yang Rc. (1999) Genetics Population Analysis (GenePop) versión 1.32 A joint Project Development. University of Alberta and Tim Boyle, Centre for International Forestry Research.

IZT



U.N.A.M. CAMPUS