



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Estructura genética del atún aleta
amarilla (*Thunnus albacares*) en el
Océano Pacífico oriental, obtenida
mediante microsatélites**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Biólogo

P R E S E N T A:

HERNÁN EDUARDO MORALES VILLEGAS



DIRECTOR DE TESIS:
DOCTOR PÍNDARO DÍAZ JAIMES
2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Hoja de Datos del Jurado

| |
|---|
| 1. Datos del alumno Morales Villegas Hernán Eduardo 55502226 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 301501190 |
| 2. Datos del tutor Dr. Píndaro Díaz Jaimes |
| 3. Datos del sinodal 1 Dr. Manuel Uribe Alcocer |
| 4. Datos del sinodal 2 Dr. Juan Servando Núñez Farfán |
| 5. Datos del sinodal 3 Dra. Ella Gloria Vázquez Domínguez |
| 6. Datos del sinodal 4 Biol. Jaime Gasca Pineda |
| 7. Datos del trabajo escrito. Estructura genética del atún aleta amarilla (<i>Thunnus albacares</i>) en el Océano Pacífico oriental, obtenida mediante microsatélites. 93 pp. 2009 |

Agradecimientos

A mis papas, por su infinito apoyo, comprensión, interés y amor, sin ustedes no lo habría logrado y estaría muy lejos de ser siquiera un poco de lo que soy hoy. Muchas gracias por todo.

A Emilia, por haberme apoyado y soportado durante mi incompetencia en el laboratorio, mi desventura tecnológica y mi frustración como escritor, sin ti, no habría podido, pero sobre todo gracias por caminar junto a mí.

Al Dr. Píndaro Díaz por ser más que un asesor, te considero un buen amigo y espero un día un colega. Tu apoyo y enseñanzas fueron de muchísima importancia para mí, gracias.

Al Dr. Manuel Uribe, porque no pude haber caído en mejores manos, y por creer en mí desde el principio.

A mis sinodales: el Biol. Jaime Gasca Pineda, la Dra. Ella Vázquez Domínguez y el Dr. Juan Núñez Farfán gracias, por amablemente apuntar los errores en este documento.

A mis compañeros del Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos (ICMyL, C.U.) por instruirme en aciertos y errores, gran parte de esto no hubiera sido posible sin su ayuda.

A mis amigos de la vida; Beto, Mario, Jonás, Lau, Castel, Leo, Billie, Salma, Güero y Tony, que si bien a la fecha aun no se enteran bien de que fue mi Tesis, siempre estuvieron apoyándome e interesándose por mis pasos. Muchas gracias.

A los de la Facultad; Ania, Gaby, Maria, Alicia, Carlos, Marel, Gina, Camilo, Jimena, Gálvez, Rich y Fior, porque después de haber compartido nuestras frustraciones, me da mucho gusto poder compartir ésto con ustedes, muchas gracias por estar ahí.

Gracias al CONACYT y al PAPIIT (No. IN208408) por haber contribuido con el financiamiento del proyecto.

Para el hombre que me abrió
la puerta a la ciencia.
Para la mujer que me enseñó
el sendero de la vida,
a mis abuelos.

| | |
|--|-----------|
| RESUMEN | 7 |
| ABSTRACT | 8 |
| I. INTRODUCCIÓN | 9 |
| II. ANTECEDENTES | 15 |
| 2.1 EL ATÚN ALETA AMARILLA | 15 |
| 2.1.1 POSICIÓN TAXONÓMICA Y CLASIFICACIÓN | 15 |
| 2.1.2 DISTRIBUCIÓN Y MOVIMIENTOS HORIZONTALES Y VERTICALES. | 16 |
| 2.1.3 CRECIMIENTO Y PROPORCIÓN DE SEXOS | 17 |
| 2.1.4 DINÁMICA DEL DESOVE DE ATÚN ALETA AMARILLA EN EL PACÍFICO ORIENTAL | 18 |
| 2.2 PESQUERÍA DEL ATÚN ALETA AMARILLA | 18 |
| 2.2.1 CAPTURA SEGÚN ESPECIE, <i>STOCK</i> , PAÍSES PRODUCTORES Y ARTE DE PESCA | 18 |
| 2.2.2 SITUACIÓN DEL <i>STOCK</i> DEL ATÚN ALETA AMARILLA DEL PACÍFICO ORIENTAL | 23 |
| 2.3 CARACTERÍSTICAS OCEANOGRÁFICAS DE OCEANO PACÍFICO ORIENTAL | 25 |
| 2.3.1 CORRIENTES SUPERFICIALES | 25 |
| 2.3.2 AGUAS SUPERFICIALES | 27 |
| 2.3.3 ZONAS DE ALTA PRODUCTIVIDAD | 27 |
| 2.3.4 CARACTERÍSTICAS OCEANOGRÁFICAS RELACIONADAS CON EL ATÚN ALETA AMARILLA | 28 |
| 2.4 GENÉTICA DE POBLACIONES | 29 |
| 2.5 ESTRUCTURA GENÉTICA Y ASIGNACIÓN DE <i>STOCKS</i> EN LAS PESQUERÍAS | 30 |
| 2.6 GENÉTICA POBLACIONAL DEL ATÚN ALETA AMARILLA | 31 |
| III. OBJETIVOS | 33 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 34 |
| V. MATERIALES Y MÉTODOS | 35 |
| 5.1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS | 35 |
| 5.2 TRABAJO DE LABORATORIO | 35 |
| 5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 38 |
| VI. RESULTADOS | 44 |
| 6.1 PRUEBA DE EQUILIBRIO DE H-W Y DIVERSIDAD GENÉTICA. | 44 |
| 6.2 ANÁLISIS DE DIVERGENCIA POBLACIONAL | 47 |
| 6.3 TAMAÑO EFECTIVO POBLACIONAL Y FLUJO GÉNICO. | 52 |
| 6.4 ESTIMACIÓN DEL PODER ESTADÍSTICO | 55 |

| | |
|---|-----------|
| <u>VII. DISCUSIÓN</u> | 56 |
| 7.1 DIVERSIDAD GENÉTICA POBLACIONAL | 56 |
| 7.2 ANÁLISIS INTER-POBLACIONAL | 59 |
| 7.3 APLICACIÓN DEL ESTADÍSTICO F | 61 |
| 7.4 DIFERENCIACIÓN TEMPORAL | 61 |
| 7.5 DIFERENCIACIÓN ESPACIAL | 65 |
| 7.6 TAMAÑO EFECTIVO POBLACIONAL Y FLUJO GÉNICO | 68 |
| 7.7 RELEVANCIA Y APORTES | 75 |
| 7.8 SITUACIÓN DEL <i>STOCK</i> , PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES | 76 |
| 7.9 RECOMENDACIONES Y PROPUESTAS DE MANEJO | 78 |
| <u>VIII. CONCLUSIONES</u> | 81 |
| <u>IX. REFERENCIAS</u> | 83 |
| <u>APÉNDICE I</u> | 92 |
| <u>APÉNDICE II</u> | 93 |
| <u>APÉNDICE III</u> | 94 |

Resumen

El atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) es una especie que sustenta una pesquería de gran importancia en el Océano Pacífico oriental. Es el recurso pesquero, entre los atunes y similares, que registra el mayor volumen de captura en el Pacífico oriental y México ocupa el primer lugar en esta actividad.

Con la finalidad de contribuir en el diseño de planes de manejo del recurso, y promover su sustentabilidad; se estudió la estructura genética poblacional en un total de 340 individuos representados en cinco muestras (Oaxaca 2004, Oaxaca 2005, Ecuador 2004, Perú 2002 y Perú 2005) de atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental y una del Océano Atlántico (Atlántico 1990), para analizar la presencia de divergencia genética en el *stock* pesquero, mediante el procesamiento de cuatro microsatélites tetranucleótidos como marcador molecular. En el muestreo se incluyeron repeticiones temporales para las regiones norte y sur del Pacífico oriental con la finalidad de estudiar el efecto de la diferenciación temporal.

Nuestros resultados muestran dos tipos de diferenciación, temporal y espacial, entre las localidades. Mientras que las localidades de Perú 2002 y Perú 2005 no resultaron significativamente diferentes en la prueba exacta de diferenciación ($X^2= 14.606$ $P= 0.0776$) y en la prueba pareada de F_{ST} ($F_{ST}= -0.0019$ $P= 0.1502$), las localidades de Oaxaca 2004 y Oaxaca 2005 sí exhibieron un proceso de divergencia genética ($X^2= 22.681$ $P= \mathbf{0.0038}$; $F_{st}= 0.0153$ $P= \mathbf{0.0039}$). Este patrón de diferenciación temporal se debe a que probablemente los individuos capturados en Oaxaca 2004 provengan de una posición geográfica distinta, debido a los efectos climáticos ocasionados por el fenómeno del Niño, o bien, que la muestra de Oaxaca 2004 sea muy pequeña ($N= 34$), lo que podría ocasionar un patrón de diferenciación erróneo.

No obstante, también se encontró una cantidad pequeña, pero significativa, de estructura genética poblacional entre las muestras de Oaxaca 2005 y Perú ($X^2= 23.115$ $P= 0.00322$; $F_{ST}= 0.0018$ $P= 0.038$). De igual forma, los resultados obtenidos con las pruebas de distancias genéticas y flujo genético corroboran este patrón de diferenciación espacial. La divergencia al norte y sur del ecuador se adjudica al proceso diferencial de desove que se lleva a cabo en el Pacífico oriental, aunado a las evidencias de movimientos migratorios cortos del atún aleta amarilla y las barreras oceanográficas presentes en el sistema del Pacífico oriental.

Éste es el segundo estudio de su clase que reporta un patrón de diferenciación genética espacial al norte y sur del ecuador en el Océano Pacífico oriental. Estos resultados deben ser considerados como una evidencia preliminar de la existencia de diferenciación en el *stock* pesquero del atún aleta amarilla.

Se recomienda que se promueva un estudio más extenso, donde se amplíe el número y tipo de marcadores moleculares y se incluya un número de muestra mayor para investigar el efecto de la diferenciación temporal al norte del Pacífico oriental.

Abstract

The yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) supports a huge fishery in the eastern Pacific Ocean. This fishery, within the tuna and tuna-like fisheries, has the largest catches in the eastern Pacific and Mexico ranks first in capture.

With the aim of contributing to the design of management plans, and promote the sustainability; here the population genetic structure in a total of 340 individuals represented on five samples (2004 Oaxaca, Oaxaca 2005, Ecuador 2004, Peru 2002 Peru 2005) of yellowfin tuna in the eastern Pacific Ocean and one in the Atlantic Ocean (Atlantic 1990) was examined to analyze the presence of genetic divergence in the stock fisheries by processing four tetranucleotide microsatellites as molecular marker. Temporal sampling replics for the Northern and Southern of the Eastern Pacific were included, with the aim of studying the effect of temporal differentiation.

The results show two types of differentiation within the samples; the spatial and the temporal. While the samples of Peru 2005 and Peru 2002 were not significantly different neither in the exact test of differentiation ($X^2 = 14,606$ $P = 0.0776$), nor in the paired test of F_{ST} ($F_{ST} = -0.0019$ $P = 0.1502$), the samples of Oaxaca 2004 and Oaxaca 2005 displayed a process of genetic divergence ($X^2 = 22,681$ $P = 0.0038$; $F_{ST} = 0.0153$ $P = 0.0039$). This temporal pattern of differentiation is likely due to the fact that individuals captured in Oaxaca 2004 come from a different location, due to climatic effects caused by the El Niño phenomenon, or that the sample of 2004 Oaxaca is very small ($N = 34$), which promotes a pattern of wrong differentiation.

However, there was also a small but significant population genetic structure among samples from Peru and Oaxaca 2005 ($X^2 = 23,115$ $P = 0.00322$; $F_{ST} = 0.038$ $P = 0.0018$). Similarly, the results obtained by testing the genetic distances and gene flow corroborates this pattern of spatial differentiation. The divergence to the North and South of the Equator is caused by the differential spawning process that takes place in the Eastern Pacific, in addition to the evidence of short movements of yellowfin tuna and the presence of oceanographic barriers.

This is the second study of its kind that reports a pattern of spatial genetic differentiation in the North and South of the Equator in the Eastern Pacific Ocean. These results should be considered as a preliminary evidence of the existence of differentiation in the stock of yellowfin tuna.

However, it can be recommended to promote a more extensive study, which expands the number and type of molecular markers and includes a number of larger samples to investigate the effect of temporal differentiation in the North of the Eastern Pacific.

I. Introducción

Los organismos acuáticos son las únicas especies que aún son explotadas en forma intensiva directamente de las poblaciones silvestres (Ryman *et al.* 1995) y estas poblaciones sustentan a una industria de gran magnitud y en constante crecimiento, la cual a su vez, satisface la demanda alimenticia generada por las poblaciones humanas.

Tal explotación y en particular la sobrepesca, pueden originar problemáticas de gran impacto para los recursos y una disminución en su diversidad genética, provocando cambios en las características ecológicas de las poblaciones, como por ejemplo; disminución de la edad de madurez, modificación en la proporción de sexos e incremento en la mortalidad (Smith, 1994). Estas respuestas, incluso como respuesta natural de las poblaciones a su captura, aunado a la creciente demanda de productos pesqueros, han derivado en la necesidad de implementar programas de manejo de recursos para proteger a las poblaciones, y de esta forma prevenir decrementos poblacionales de consideración e incluso extinciones locales o globales. Estas metas son perseguidas por la administración de pesquerías, cuyos principales objetivos son asegurar la sustentabilidad de los recursos y evitar declives poblacionales. Estos objetivos deben ser cumplidos tomando decisiones que consideren las implicaciones que tendrán tanto para las especies que se encuentran sometidas a un proceso de explotación como para la sociedad que depende de la pesca. Los administradores deben de tomar en cuenta factores científicos, económicos, sociales y en algunos casos políticos para determinar los controles que se utilizarán en cualquier pesquería (Ward, 2000).

La historia de la pesca y las pesquerías advierte que los humanos hemos sometido a las especies de interés y sus ecosistemas a un gran impacto por miles de años (Jackson *et al.* 2001) y el panorama global de las pesquerías en la actualidad es poco alentador. Existen pocos ejemplos de pesquerías completamente sustentables, y estos generalmente se presentan en poblaciones de gran abundancia que son explotadas en poblaciones pequeñas o bien en poblaciones que se encuentran naturalmente protegidas, en las cuales la mayor parte de su distribución se encuentra en zonas fuera del alcance del esfuerzo pesquero (Pauly *et al.* 2002), no obstante, ninguna de estas dos condiciones se cumple en la explotación del atún aleta amarilla.

Con la finalidad de garantizar la sustentabilidad de los recursos pesqueros, los administradores deben lograr implementar estrategias que aseguren que la mortalidad ocasionada por la pesca no exceda el límite de carga que puede tolerar la población. Sin embargo, la mortalidad por pesca supera por mucho a la mortalidad natural de las poblaciones, por lo que se corre el riesgo de que las poblaciones naturales no sean capaces de contrarrestar los efectos de la pesca a través del crecimiento y la reproducción. Por ello es de vital importancia implementar planes de manejo que establezcan límites de captura y tallas mínimas con la finalidad de permitir la recuperación de las pesquerías durante y después del proceso de explotación (Cochrane, 2000). Dichos planes de manejo se basan en la definición de los “*stocks* de pesca” o unidades de administración bajo criterios principalmente de abundancia y distribución de las mismas. Sin embargo la necesidad de incorporar criterios genéticos para su definición ha sido discutida en forma amplia durante las dos últimas décadas (Awise, 1998; Waples, 1998; Grant y Bowen 1998; Graves, 1998; O’Connell y Wright 1997; Ward, 2000; Bartley, 2005; Grant, 2006; Marteinsdóttir y Pardoe, 2008).

Lo anterior se fundamenta principalmente en que la pesca ejerce una presión selectiva artificial, ya que en su mayoría las pesquerías promueven la mortalidad selectiva, que tiene como objetivo una clase de edad o un tamaño específico. Por lo que generalmente los individuos son capturados diferencialmente, siendo los más grandes, longevos y los que crecen a mayor velocidad los más capturados. Este fenómeno provoca efectos selectivos en las poblaciones, ya que algunos fenotipos experimentan mayores tasas de crecimiento que otros (Marteinsdóttir y Pardoe, 2008), y la transferencia de estos caracteres a través de la herencia presumiblemente ha derivado en cambios evolutivos en algunas poblaciones, como se ha demostrado en la maduración temprana en el bacalao (Sinclair *et al.* 2002) y la reducción de tamaño corporal en el salmón rosado (Ricker 1981) y en la sardina del Atlántico (Conover y Munch, 2002).

Esta presión artificial puede ocasionar modificaciones en la variabilidad genética de las poblaciones, y de igual forma alterar, en mayor o menor grado, los procesos de las cuatro fuerzas evolutivas fundamentales que moldean la variabilidad genética; selección natural, migración, mutación y deriva génica, y en consecuencia, derivar en una reducción de la diversidad genética de las poblaciones, que merma la plasticidad adaptativa y

provoca la aparición de cuellos de botella en las poblaciones (Policansky, 1993; Marteinsdóttir y Pardoe, 2008), reduciendo la capacidad de respuesta en las poblaciones a cambios súbitos en el ambiente.

Sin embargo, es difícil afirmar de forma contundente que la explotación pesquera tiene un efecto directo sobre los patrones evolutivos de las especies, ya que estas respuestas pueden ser tan solo producto de adaptaciones temporales de las poblaciones, por lo que es muy importante realizar estudios de genética poblacional con la finalidad de esclarecer la situación genética de los recursos pesqueros (Jennings *et al.* 1999).

Asimismo, las pesquerías que carecen de planes de manejo eficientes pueden afectar, no solo a la propia pesquería y a las especies objetivo de las cuales se sustenta, si no que también pueden tener un profundo impacto sobre el ecosistema donde estas se desarrollan. El complejo flujo energético del ambiente marino, aunado al efecto de “depredación beneficiosa”(efecto positivo del depredador sobre la presa al consumir otros depredadores o a sus competidores; Ulanowicz y Puccia, 1990), es sensible a los efectos de la sobrepesca, evidenciando que la sobreexplotación de los recursos marinos ha ocasionado un efecto contundente en el ecosistema marino global, que merma a las poblaciones desde los niveles tróficos mayores hasta los menores (Pauly *et al.* 1998).

Es por esto que la implementación de planes de manejo resulta indispensable para regular la explotación pesquera y el primer paso a seguir es establecer los límites de la pesquería a través del reconocimiento de unidades de pesca, conocidas como *stocks*. Un *stock* es un grupo de individuos que se aparean al azar y que tienen una integridad espacial y temporal (Ihssen *et al.* 1981), cuya trayectoria demográfica/genética es independiente a la de otro grupo (Waples, 1998). Si una pesquería consta de más de una zona de pesca, como casi siempre ocurre, surge la pregunta de si la población se encuentra organizada en unidades genéticamente o demográficamente discretas (más de un *stock*), porque de ser este el caso, se deben determinar diferentes niveles de explotación para cada uno de los *stocks*.

La determinación de los *stocks* comúnmente se basan parámetros poblacionales y en equilibrio entre capturas y reclutamiento, sin considerar los procesos evolutivos y genéticos a los que están sujetas las poblaciones, omitiendo la posibilidad de que dentro de estos *stocks* se formen poblaciones genéticamente discretas, que deberían ser consideradas como diferentes unas de las otras. Por lo tanto, la delimitación de los *stocks* mediante la

utilización de criterios genéticos resulta imprescindible para la regulación de la administración pesquera (Waples, 1998; O'Connell y Wright 1997; Ward, 2000). Deriso *et al.* (1998) proponen que para establecer los límites de un *stock* se deben tomar en cuenta datos de marcaje, microconstituyentes (análisis de estructuras fenotípicas microscópicas), genéticos y morfométricos, de forma amplia e integrada.

Por la homogeneidad ambiental y la ausencia de barreras geográficas que presenta el Océano Pacífico se podría suponer que los organismos no encuentran obstáculos que obstruyan el flujo génico, no obstante, factores como el aislamiento por distancia, y la presencia de barreras oceanográficas originadas por los patrones de corrientes y su convergencia, así como la estacionalidad del desove podrían promover aislamiento reproductivo entre las poblaciones propiciando fenómenos de divergencia poblacional (Grant, 2006).

El uso de marcadores moleculares para caracterizar genéticamente a las poblaciones en una escala temporal y espacial, permite identificar procesos de divergencia poblacional originados por aislamiento, debido a la presencia de barreras físicas, dispersión limitada o migración y desove diferencial (Grant, 2006). Los marcadores de DNA nuclear (DNAn) y DNA mitocondrial (DNAm), permiten identificar procesos de deriva y flujo génico entre poblaciones, y facilitan la identificación de subpoblaciones genéticamente discretas.

La conservación de la diversidad genética es un objetivo primordial en la mayoría de los programas de manejo, ya que la variación genética permite a las especies adaptarse a cambios en las condiciones ambientales y responder a programas de selección y cultivo. Cuando se diseñan programas de manejo en cualquier recurso biológico, es de vital importancia que los investigadores conozcan la variación genética dentro y entre las poblaciones.

La aplicación de los marcadores moleculares para el manejo de las pesquerías es ampliamente reconocido (Awise, 1998; Waples, 1998; Grant y Bowen 1998; Graves, 1998; O'Connell y Wright 1997; Ward, 2000). La aplicación de métodos moleculares para estudiar a las pesquerías ha tenido una historia relativamente larga en donde las herramientas se han ido sofisticando rápidamente, desde los primeros estudios que emplearon fenotipos moleculares, hasta la aplicación de la secuenciación masiva de DNAn y DNAm (revisión en: Ward y Grewe, 1994). Los marcadores multi-locus de DNAn, mejor conocidos como

microsatélites, son en muchos casos, la herramienta seleccionada para aplicaciones de manejo de poblaciones naturales o cautivas (Wright y Bentzen, 1994), por sus altos niveles de polimorfismos, codominancia y abundancia en el genoma (Jarne y Lagoda, 1996; Schlötterer y Pemberton, 1998; Zhu *et al.* 2000). Los microsatélites, son fragmentos de repeticiones cortas de dos a seis nucleótidos, su alto grado de polimorfismo se origina por el desfasamiento del DNA (*slippage*) que escapa al sistema de reparación durante la replicación (Schlötterer y Pemberton, 1998).

La tasa de mutación es un componente esencial que determina los niveles de variabilidad que se mantienen en las poblaciones. En los microsatélites se ha observado que la tasa de mutación es similar para todas las especies, y se estima que varían entre 10^{-2} y 10^{-5} por locus por generación (Tautz, 1989; Weber y Wong, 1993). Este tipo de marcador molecular presenta diferentes patrones de mutación y es muy importante identificar correctamente el proceso de mutación al que está sujeto cuando se hacen inferencias sobre procesos poblacionales. Los procesos están descritos principalmente por tres diferentes modelos de mutación: el de sitios infinitos (Kimura y Crow, 1964), el de mutación de un paso (Kimura y Ohta, 1978) y el de dos fases (Di Rienzo *et al.* 1994). El modelo de sitios infinitos establece que cada mutación dará origen a un nuevo alelo a una tasa dada (μ). Por su parte, la mutación por un paso es aquella en donde la mutación conduce a la ganancia o la pérdida (con la misma probabilidad dada por μ) de una variante nueva de una serie alélica, por lo que en este caso, la generación de alelos nuevos por mutación no es constante, ya que un alelo puede mutar a un estado ya presente en la población. Y por último, en el modelo de dos fases se propone que las mutaciones modifican el tamaño actual de los alelos en diferentes magnitudes, estableciendo que la variación será de una unidad (probabilidad P) y por más de una unidad (probabilidad 1-P), permitiendo la incorporación de nuevos alelos y la generación de alelos preexistentes (Schlötterer y Pemberton, 1998). Diferentes autores apuntan que el modelo de un paso es el más indicado cuando se trabaja con microsatélites (Shriver *et al.* 1993; Valdes *et al.* 1993; Weber y Wong 1993), sin embargo, en contraste, otros autores propusieron que el modelo de sitios infinitos es más adecuado (Estoup *et al.* 1995; O' Connell *et al.* 1998), por lo que aun existe incertidumbre sobre el modelo que es más apropiado.

No obstante, se ha propuesto que para estudios de variación en pesquerías (en ausencia de pruebas específicas y especialmente para especies con un gran número de alelos) se utilice la prueba convencional del estadístico F propuesta por Weir y Cockerham (1984) (O'Connell y Wright, 1997).

A pesar de que existen algunas incertidumbres acerca de sus patrones de evolución y posibles restricciones evolutivas, los microsatélites pueden ser considerados como marcadores neutrales (Charlesworth *et al.* 1994).

En el presente estudio se evalúa la estructura genética poblacional, el flujo genético y el tamaño efectivo poblacional del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el Océano Pacífico oriental a través del análisis de cuatro loci de microsatélites tetranucleótidos.

El atún aleta amarilla es un recurso pesquero de gran importancia en el Pacífico oriental. México ocupa el tercer lugar a nivel mundial en extracción de atún aleta amarilla y el primer lugar en el caso particular del Pacífico oriental, lo que origina una derrama económica de gran importancia para el país. En México, en el 2004 las exportaciones de atunes y similares registraron \$ 53,756,000 DLLS en el primer trimestre (CONAPESCA, 2004). Al mismo tiempo, esta pesquería satisface las necesidades alimenticias de una gran porción de la población mexicana, ocupando el tercer lugar en consumo humano directo entre todos los organismos acuáticos que se explotan en el país (CONAPESCA, 2006).

En años recientes la población de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental ha sufrido un declive en biomasa de consideración registrando niveles similares al mínimo histórico registrado en 1984 (FAO, 2009), por lo que es de vital importancia comprender los procesos genéticos y evolutivos que se producen dentro de la pesquería para así poder diseñar planes de manejo eficientes que garanticen la sustentabilidad del recurso.

II. Antecedentes

2.1 El atún aleta amarilla

2.1.1 Posición taxonómica y clasificación

El atún aleta amarilla, *Thunnus albacares* (Bonaterre, 1788), pertenece a la familia Scombridae

Clasificación del atún aleta amarilla según Lindberg (1971):

Phylum Chordata
Sub-phylum Vertebrata
Superclase Gnathostomata
Clase Teleostomi
Sub-clase Actinopterygii
Orden Perciformes
Sub-orden Scombroidei
Familia Scombridae
Sub-familia Scombrinae
Tribu Thunnini
Género *Thunnus*
Especie *albacares*

Los miembros de la familia Scombridae se distinguen por tener dos aletas dorsales, la primera sostenida por espinas, mientras que la segunda tan sólo por rayos suaves. Las aletas pélvicas se encuentran justo debajo de la base de las aletas dorsales y la aleta caudal se encuentra fuertemente fijada a la quilla peduncular caudal (FAO, 2000).

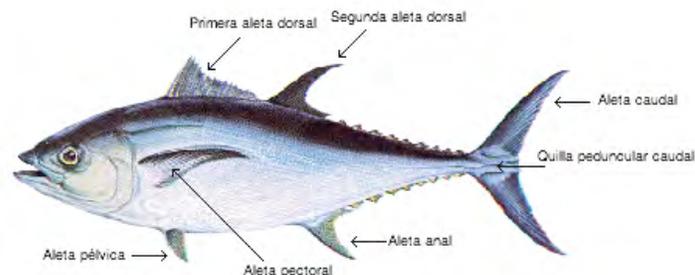


Figura 1. Características fisonómicas de los escómbridos, modificada de FAO, 2000.

Todos los integrantes, a excepción del pez espada y el marlin, poseen un par de quillas caudales en el centro del pedúnculo caudal localizado en la base de la aleta caudal. Los miembros más avanzados de la familia Scombridae tienen una gran quilla media anterior al

par de quillas caudales (Fig. 1). Sus cuerpos son robustos, elongados y muy aerodinámicos. En los escómbridos, excepto el pez espada, la primera aleta dorsal y la primera anal se pueden plegar en ranuras, y las pectorales y pélvicas en concavidades cuando el pez nada velozmente (FAO, 2000).

2.1.2 Distribución y movimientos horizontales y verticales.

El atún aleta amarilla, es un pez epipelágico que se distribuye a lo largo del todo el mundo en mares tropicales y subtropicales, en los Océanos Pacífico, Índico y Atlántico y en todos los mares calientes excepto el mediterráneo (Fig. 2) entre las latitudes 40°N-40°S aproximadamente (Kamimura y Honma, 1963; Shingu *et al.* 1974; Calkins, 1975; Suzuki *et al.* 1978; Wild, 1994).



Figura 2. En rojo se muestra la distribución global del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*).

La distribución costera del atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental va desde Punta Concepción California EUA, hasta San Antonio o el Talcahuano, Chile (Rosa, 1950), lo cual sugiere que su distribución latitudinal abarca de los 35°N-33°S.

Su distribución en la columna de agua se ve afectada por la estructura térmica vertical, datos de registros de capturas demuestran que los mayores índices se encuentran en zonas donde la profundidad de la capa de mezcla es mayor. La termoclina representa una barrera física para el atún aleta amarilla y por lo general se estima que los atunes tienen una gran afinidad a ubicarse en el límite inferior de la misma (Carey y Olson, 1982). Block *et al.* (1997) utilizaron telemetría acústica para medir los movimientos a pequeña escala de aleta

amarilla al norte de su distribución. El estudio fue realizado durante los meses cálidos en la bahía de California, y encontraron que tienen una marcada preferencia por ubicarse sobre la capa de mezcla. Este comportamiento influye en la distribución horizontal del atún aleta amarilla, ya que a lo largo de los movimientos horizontales, la profundidad de la capa de mezcla determina los patrones de distribución espacial en la columna de agua.

A causa de que los atunes son atraídos por el alimento, la disponibilidad de este recurso es otro factor que repercute en la distribución y agregación de los cardúmenes de aleta amarilla (Shimada y Schaefer, 1956).

Estudios de marcaje en aletas amarilla muestran, que a pesar de ser considerada una especie altamente migratoria, las migraciones suelen darse dentro de las regiones y no tanto entre las regiones, mostrando patrones migratorios relativamente cortos de cientos de kilómetros y, sólo en ocasiones, de miles de kilómetros (Hunter *et al.* 1986). Fink y Bayliff (1970) en un experimento de marcaje de atunes entre 1952-1964 en el Pacífico oriental mostraron la existencia de dos grupos al norte y el sur del ecuador los cuales realizan movimientos longitudinales cortos, en dirección norte y sur partiendo del ecuador durante la primavera y el verano, con bajo porcentaje de mezcla.

Schaefer *et al.* (2007) realizaron un estudio con marcas de archivo (marcas satélites que registran y guardan una gran cantidad de parámetros) en 68 atunes aleta amarilla que se encontraban en mar abierto en Baja California. Los datos proporcionados por las marcas revelaron que los atunes presentan una distribución vertical y horizontal confinada, aparentemente a sus sitios de alimentación, además de presentar patrones de migración horizontal cortos, determinados por el movimiento estacional de la isoterma de los 18°C. Los autores proponen la posibilidad de que los aleta amarilla al norte de su distribución presenten una distribución aislada al resto de las poblaciones sureñas, lo cual abre la posibilidad de la existencia de una subpoblación, que podría ser más vulnerable a los altos niveles de esfuerzo pesquero.

2.1.3 Crecimiento y proporción de sexos

El atún aleta amarilla alcanza tallas promedio de 150cm., y posee una tasa de crecimiento acelerada, alcanzando la madurez en los dos primeros años (Kikawa, 1966; Yuen y June,

1957; Suzuki *et al.* 1978), cuando miden entre 70-80cm., aunque algunos no alcanzan la madurez hasta los 120cm. (Wild, 1994).

Posteriormente Schaefer (1998) empleando métodos histológicos, mediante un amplio muestreo en todo el Pacífico oriental encontró diferencias al tiempo de madurez entre los sexos. Estas diferencias pudieran ocasionar modificaciones en las características demográficas de las poblaciones ya que, aunque se estima que la proporción de sexos en el atún aleta amarilla no se desvía de 1:1, existen evidencias de que hay una menor incidencia de hembras en clases de tamaños grandes (Schaefer, 1998). La ausencia de hembras de mayores tamaños se puede deber a mortalidad natural diferencial, a causa del costo del desove (Schaefer, 1998) aunque no se descarta mayor vulnerabilidad a la pesca por parte de las hembras (Wild, 1994).

2.1.4 Dinámica del desove de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental

El desove del atún aleta amarilla ocurre a lo largo de todo el año en aguas tropicales, principalmente en zonas costeras o cercanas a archipiélagos (Leis, 1991). Existe evidencia de que en el Océano Pacífico oriental se da un proceso de desove diferencial, en el cual las poblaciones al sur y al norte del ecuador desovan en diferentes temporadas según la ocurrencia del verano septentrional (al norte) y meridional (al sur) (Schaefer, 1998). Lo cual es congruente con estudios realizados sobre patrones de distribución de larvas, en los que las temperaturas mínimas a las cuales se encontraron larvas del género *Thunnus* fueron aproximadamente los 24°C (Boehlert y Mundy, 1994).

2.2 Pesquería del atún aleta amarilla

2.2.1 Captura según especie, *stock*, países productores y arte de pesca

La oferta principal de atunes y similares a nivel global esta compuesta por el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), el albacora (*Thunnus alalunga*), el atún patudo (*Thunnus obesus*), el atún aleta azul del Atlántico (*Thunnus thynnus*), el atún aleta azul del Pacífico (*Thunnus orientalis*), el aleta azul del sur (*Thunnus maccoyii*) y el barrilete (*Katsuwonus*

pelamis). El aleta amarilla es el segundo producto más importante en peso de todas las especies de atunes y similares (FAO, 2009), y es una especie que posee una gran abundancia por lo que es sometido a un gran esfuerzo pesquero.

La producción global de los atunes que componen la mayor parte del mercado global de atunes creció de forma más o menos estable de 0.2 millones de toneladas a principios de 1950 hasta alcanzar la cifra histórica de 4.5 millones de toneladas en el año 2005, decreciendo levemente en el año 2006 (FAO, 2009).

Históricamente la mayor parte de la captura de atunes y similares se ha dado en el Océano Pacífico. Entre 1998 y 2002 la captura anual de estas especies en el Océano Pacífico se ha mantenido relativamente estable entre aproximadamente 2.5-2.8 millones de toneladas (Fig. 3), siendo el atún aleta amarilla y el barrilete las especies que contribuyen en mayor medida (85%) a estas cifras, (Fig. 4).

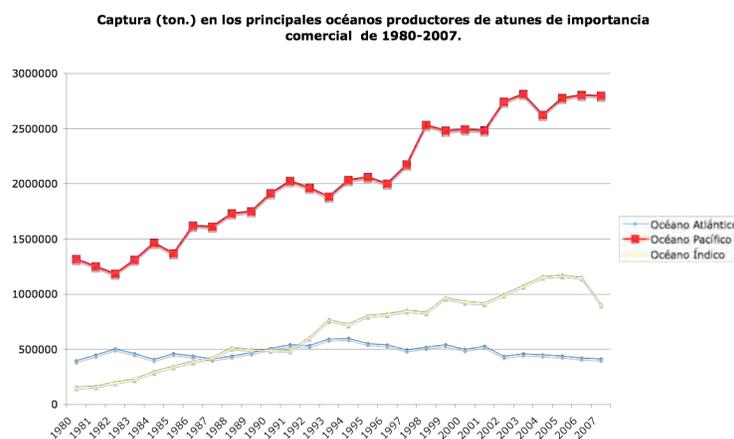


Figura 3. Origen de la producción global de atunes. Considerando las especies: *Thunnus albacares*, *Thunnus alalunga*, *Thunnus obesus*, *Thunnus thynnus* (sólo presente en el Atlántico), *Thunnus orientalis*, *Thunnus maccoyii*, *Katsuwonus pelamis* para la construcción del gráfico. El Océano Pacífico es el principal productor de estos recursos. Datos obtenidos de FIGIS, FAO, 2009.

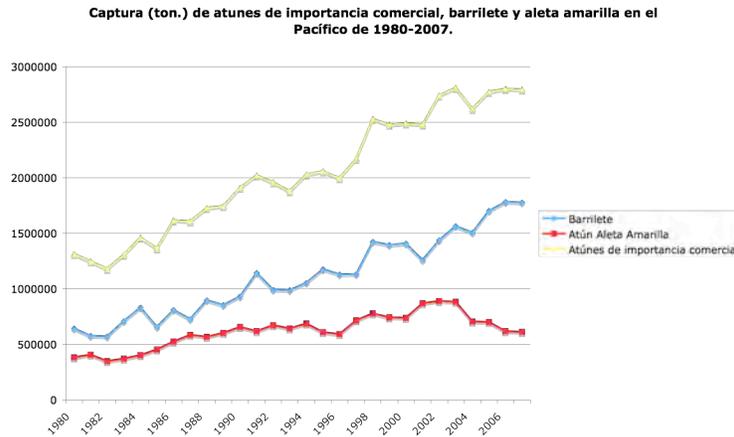


Figura 4. Producción de atunes y contribución de las dos principales especies en el Océano Pacífico. Se consideraron las especies; *Thunnus albacares*, *Thunnus alalunga*, *Thunnus obesus*, *Thunnus orientalis*, *Thunnus maccoyii*, *Katsuwonus pelamis* para la construcción del gráfico. Datos obtenidos de FIGIS, FAO, 2009.

Actualmente se considera que el atún aleta amarilla puede ser dividido en cuatro diferentes poblaciones (*stocks*) a nivel global: la del Océano Atlántico, Océano Índico, Pacífico central-occidental y Pacífico oriental. Con excepción del *stock* del Atlántico los otros tres han tenido una producción similar, aumentando en el tonelaje capturado a partir de 1985 y manteniendo un aumento constante, aunque los *stocks* del Índico y Pacífico oriental sufrieron un descenso en las capturas de los últimos años (Fig. 5).

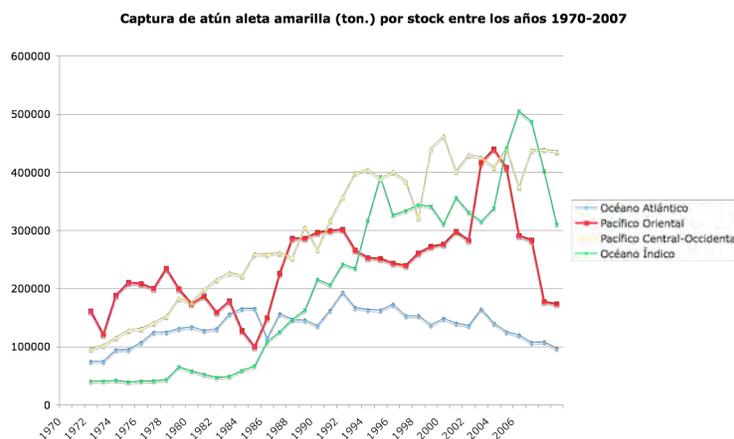


Figura 5. Producción de cada uno de los *stocks* de atún aleta amarilla. Datos obtenidos de FIGIS, FAO, 2009.

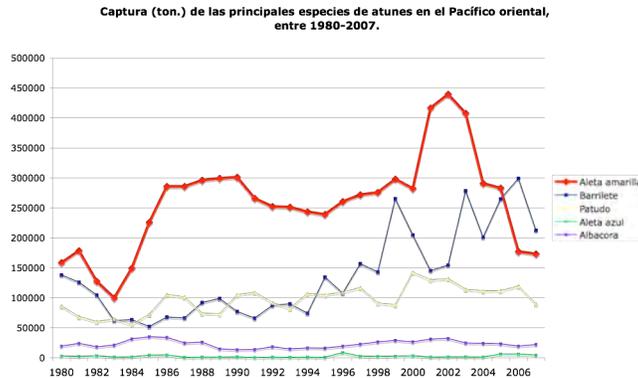


Figura 6. Producción de atunes y similares por especie en el Océano Pacífico oriental. Datos obtenidos de FIGIS, FAO, 2009.

El atún aleta amarilla ocupa el segundo lugar en capturas a nivel global justo debajo del barrilete (Fig 4.); en el Pacífico oriental es la especie (dentro del grupo de las especies de atunes y similares) que registra los mayores volúmenes de captura (Fig. 6). Esto se debe principalmente a que las pesquerías que operan en el Pacífico oriental tienen como especie objetivo al aleta amarilla, y el resto de las especies por lo general son capturadas incidentalmente, y no tanto a diferencias en la biomasa o reclutamiento de las diferentes especies entre las diferentes zonas del Pacífico.

En el caso específico de la extracción de atún aleta amarilla, México se ha caracterizado por ser uno de los principales productores ocupando el tercer lugar a escala global (Fig. 7.A) y el primer lugar en extracción de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental (Fig. 7.B).

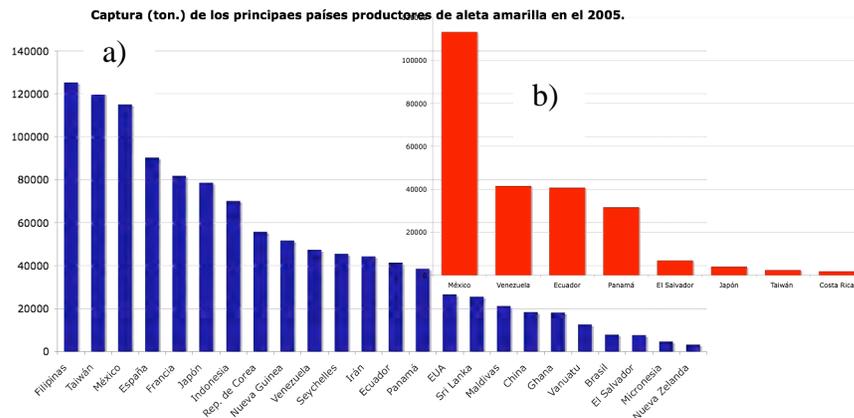


Figura 7. Principales países productores de atún aleta amarilla: (a) a nivel mundial y (b) en el Pacífico oriental. Datos obtenidos de FIGIS, FAO, 2009.

El atún aleta amarilla es capturado con diferentes artes de pesca como redes de cerco, palangre, y caña y línea. En el Pacífico occidental-central la mayor parte de la captura hasta mediados de la década de 1970 fue realizada con palangre, y a principios de la década de 1980 la pesca con redes de cerco comenzó a tomar fuerza teniendo un incremento más o menos constante alcanzando su máximo histórico en 1998 con 0.2 millones de toneladas. (Fig. 8.A). Por su parte las capturas en el Pacífico oriental desde los años 1950 se había compuesto de capturas más o menos similares de redes de cerco, palangre y línea y caña, pero desde mediados de la década de 1960 la captura con redes de cerco incrementó y convirtió esta pesquería en la más importante en el Pacífico oriental alcanzando su máximo histórico en el 2002 con 0.4 millones de toneladas, a pesar de que al principio de 1980 la captura descendió considerablemente (Fig. 8.B) debido principalmente a las restricciones impuestas por EUA a causa de la mortalidad incidental de delfines que presenta esta pesquería y en menor medida por efectos relacionados con años Niño. La pesquería con redes de cerco en el Pacífico oriental opera entre los 10°N-20°S y los 80°-125°O (Miyake *et al.* 2004).

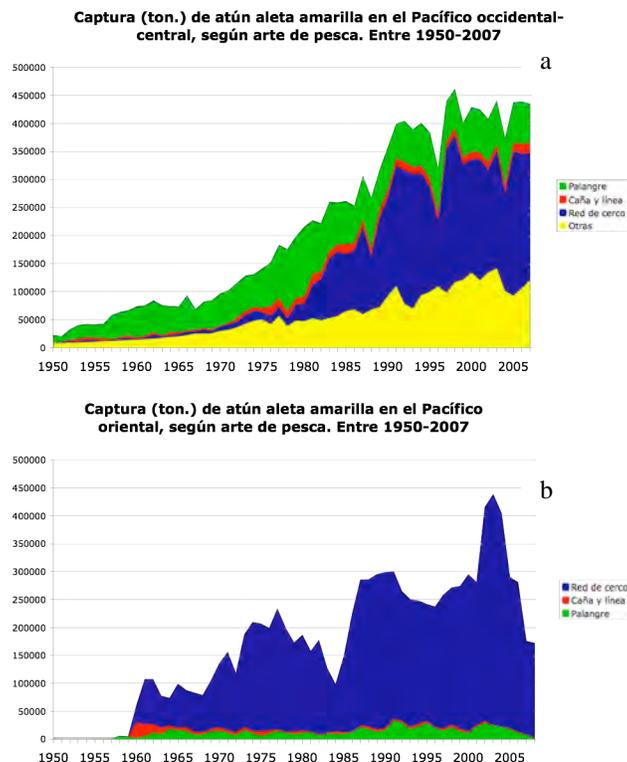


Figura 8. Captura de atún aleta amarilla según arte de pesca: (a) en el Pacífico occidental-central y (b) en el Pacífico oriental. Datos obtenidos de FIGIS, FAO, 2009

2.2.2 Situación del *stock* del atún aleta amarilla del Pacífico oriental

La asignación actual de los diferentes *stocks* en los atunes es evaluada bajo el criterio de que un *stock* es un grupo único que se identifica según sus características físicas o genéticas, que se encuentra aislado del resto de los grupos y que puede ser manejado como una unidad discreta, con reproducción y respuesta a la pesca independiente (Maunder y Aires-da-Silva, 2007). Al analizar estos grupos debe ser posible identificar parámetros poblacionales propios, tales como crecimiento, tasa de mortalidad, índice de biomasa y agregaciones de desove. Los modelos con los cuales se evalúa un *stock* consideran diferentes parámetros, tanto poblacionales como pesqueros, siendo los principales: datos de pesquerías (captura total según tamaño, edad y distribución y esfuerzo pesquero), datos de marcaje y recaptura, datos oceanográficos y datos de conocimiento biológico general de la especie (Maijkowski, 2007). Es importante recalcar que no se menciona cuáles datos biológicos (y/o genéticos) se incorporan a los modelos.

La situación actual de los *stocks* del aleta amarilla están considerados como completamente explotados, y los datos de los modelos indican que tan solo el *stock* del Pacífico central occidental presenta riesgo de agotamiento o colapso (Tabla 1.).

Tabla 1. Situación de los *stocks* de las dos principales pesquerías de atunes y similares.

| Pesquería (<i>stock</i>) | Situación de la pesquería |
|------------------------------------|---------------------------|
| Océano Atlántico | CE |
| Océano Índico | CE |
| Océano Pacífico oriental | CE |
| Océano Pacífico central-occidental | CE/S |

(Datos obtenidos de Maijkowski, 2007)

D: desconocido.

EM: explotado moderadamente; potencial limitado de incremento sostenible en la captura.

CE: completamente explotado; pesquería cercana a su nivel máximo, sin posibilidad de incremento sostenible en la captura.

S: sobreexplotado; pesquería por encima del nivel sostenible a largo plazo (con riesgo de agotamiento o colapso) sin posibilidad de incremento sostenible en la captura.

Según datos de la Comisión Inter-Americana del Atún Tropical (IATTC, por sus siglas en inglés, 2007), el reclutamiento de atún aleta amarilla en las pesquerías en el Pacífico

oriental es variable, comportándose de forma estacional. El análisis indica que la población del atún aleta amarilla ha pasado por tres regímenes de productividad (niveles de productividad de biomasa); 1975-1983, 1984-2000 y 2001-2006, correspondientes a niveles de reclutamiento bajo, alto e intermedio, respectivamente, y es importante notar que en el 2006 el nivel de biomasa llegó a niveles similares al mínimo histórico, reportado en años anteriores a 1985 (Fig. 9). La productividad se encuentra asociada a las condiciones climáticas y a las características intrínsecas de las poblaciones las cuales varían de un año con respecto a otro. Aunque no hay que perder de vista que las estadísticas con las que contamos dependen estrechamente del esfuerzo pesquero realizado por los diferentes países, el cual a su vez, depende de condiciones sociales, económicas, científicas e incluso políticas que prevalecen en las temporadas de captura.

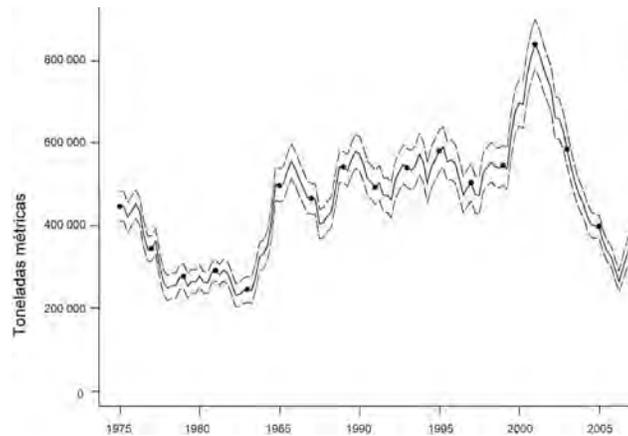


Figura 9. Biomasa estimada de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental. La línea gruesa ilustra las estimaciones de verosimilitud máxima de la biomasa, y las líneas delgadas los intervalos de confianza al 95% (Tomada de Maunder y Aires-da-Silva, 2007).

Maunder y Aires-da-Silva (2007) demostraron el efecto tan importante de la pesca sobre la biomasa del aleta amarilla en el Pacífico oriental mediante simulaciones de biomasa con y sin pesca (Fig. 10).

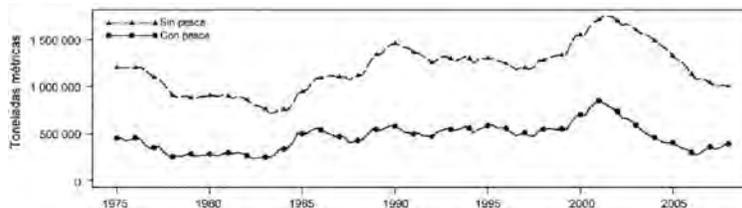


Figura 10. Trayectoria de la biomasa de una población simulada de atún aleta amarilla que nunca fue explotada (“sin pesca”) y la biomasa real de la población (“con pesca”) (Tomada de Maunder y Aires-da-Silva, 2007).

Maijkowski (2007) propuso que el conocimiento sobre los principales atunes se puede mejorar con mejores datos de capturas, de sus características y de la cantidad de esfuerzo pesquero, así como con la aplicación de mejores nociones biológicas básicas acerca de la especie, pero nunca menciona la incorporación de datos genéticos, ecológicos o evolutivos. Así mismo, en su informe menciona que el futuro de los *stocks* de los principales atunes capturados a nivel mundial depende principalmente de la intensidad con la que se explote el recurso en el futuro y la respuesta del *stock* a la explotación, apuntando que la respuesta del *stock* no puede ser calculada con precisión debido a que los actuales niveles de biomasa están por debajo de los reportados en el pasado, a que la tasa de explotación es mucho mayor en la actualidad y a que los patrones de explotación son diferentes a los del pasado.

2.3 Características oceanográficas de Océano Pacífico oriental

2.3.1 Corrientes superficiales

El sistema de corrientes del Pacífico oriental es muy variable debido a que se encuentra sometido a los patrones de los principales sistemas de vientos. Los gradientes de presión de los vientos del Este superan a los del Oeste por lo que se forma la Contracorriente Ecuatorial (CCE) que fluye hacia el Este, en sentido opuesto y entre la Corriente Ecuatorial del Sur (CES) y la Corriente Ecuatorial del Norte (CEN). La CES y la CEN son parte del sistema de giros anticiclónicos del Pacífico Norte y Sur. La Corriente de California (CC) al norte y la Corriente de Perú (CP) al sur, forman los límites al este de estos giros (Fiedler, 1992) (Fig. 11) .

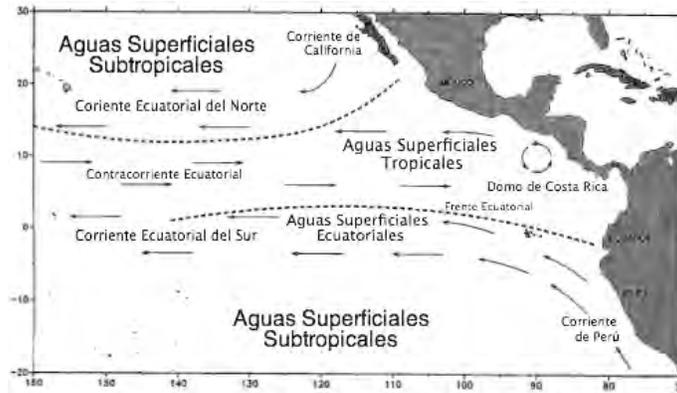


Figura 11. Sistema de corrientes del Océano Pacífico oriental. Modificada de Fiedler (1992).

La CC fluye frente la costa de Baja California hacia el sur, su velocidad es variable siendo los meses de febrero a junio los que registran mayor fuerza, mientras que a partir de julio la corriente se separa de la costa perdiendo fuerza. Su dirección a lo largo del año es prácticamente constante, con excepción que durante el mes de agosto la corriente tiene un pequeño desvío hacia el noroeste.

La CCE fluye hacia el este desde los 140° O, entre los 4°-11° N, su posición y anchura es variable según la temporada, durante los meses entre mayo-diciembre la CCE se forma con claridad. Al este de los 90° O la CCE se bifurca y en parte se dirige hacia el norte y noroeste, alrededor del Domo de Costa Rica y otra parte hacia el sur y el oeste penetrando el sistema de la CES. Durante los meses de enero a abril la contracorriente comienza a segmentarse y sus límites latitudinales varían.

La CEN fluye con dirección oeste a lo largo de los 11° N. La CEN se alimenta de aguas de la CC y aguas del Pacífico Oriental Tropical, aunque esta contribución es variable según la temporada. De marzo a julio la CEN es alimentada principalmente por la CC, mientras que la contribución de las aguas del Pacífico Oriental tropical es más significativa el resto del año.

La CES se mueve hacia el oeste por ambos lados del ecuador. Su límite al norte está marcado por la CCE a aproximadamente 4°N, y al sur decreciendo en velocidad y fuerza en la región del Pacífico Oriental Subtropical, registrando su mayor velocidad entre los 3°N y 8°S. Existe un flujo opuesto a la CES, la Subcorriente Ecuatorial, que en los meses de marzo y abril produce un flujo ocasional en dirección este, a causa del ascenso en la profundidad de la Subcorriente por la ausencia de los vientos del este.

La CP fluye a lo largo de la costa con dirección noroeste, cerca de los 5°S comienza a abandonar la costa y toma dirección oeste aumentando considerablemente su velocidad.

2.3.2 Aguas superficiales

En el Pacífico oriental se encuentran principalmente tres masas de agua superficiales: aguas superficiales tropicales, aguas superficiales subtropicales y aguas superficiales ecuatoriales. Cada una de estas masas de agua superficiales tiene diferentes características ya que el Pacífico oriental se encuentra bajo diferentes regimenes de climas locales y generales.

Las aguas superficiales tropicales se encuentran en el centro del Pacífico oriental a lo largo de los 10°N, se distinguen por ser las aguas más cálidas y menos salinas del Pacífico Oriental. La baja salinidad se debe a que la cantidad tan alta de precipitación excede a la evaporación (Fiedler, 1992). Los límites latitudinales de esta masa de agua se encuentran entre los 4°N al sur, y la isoterma de los 25°C al norte (15°N aproximadamente) (Wyrki, 1967). Las aguas superficiales subtropicales se localizan en los extremos del Pacífico oriental en los giros anticiclónicos de Pacífico Norte y Sur, se caracterizan por ser frías y de alta salinidad. Las aguas superficiales ecuatoriales se encuentran entre las masas de agua tropicales y las subtropicales del sur, son una masa de agua fría que se extiende con dirección oeste desde las costas peruanas y su salinidad es intermedia. Adicionalmente se encuentran masas de agua de la CC y la CP que poseen baja temperatura y salinidad (Fiedler, 1992).

2.3.3 Zonas de alta productividad

Se localizan diferentes zonas de alta productividad (surgencias) a lo largo de los extremos al norte y sur del Pacífico oriental y en la zona ecuatorial. Las surgencias son originadas por movimientos verticales de masas de agua desde las zonas profundas hacia la superficie, los cuales dan origen a zonas altamente productivas. Los efectos de las surgencias son evidentes cuando el nivel de la termoclina es profundo y las aguas superficiales poseen una temperatura baja. Existen dos zonas de choque y separación de corrientes y de surgencias

generadas por este encuentro en dos sitios del sistema de corrientes ecuatoriales: a lo largo del ecuador y en la zona comprendida entre la CEN y la CCE a los 10°N (Svedrup *et al.* 1942). Las zonas de surgencias localizadas en el Pacífico oriental se encuentran a lo largo de las costas de Baja California y Perú y en diferentes puntos a lo largo de Centro América (Fiedler, 1992; Tomczak y Godfrey, 1994). El transporte de aguas superficiales y aguas ricas en nutrientes son dirigidas por los vientos costeros en dirección al ecuador a lo largo de las costa de Baja California y Perú, mientras que las surgencias en Centro América son ocasionadas por vientos provenientes del continente en diferentes puntos. La zona de surgencia de la costa de Perú es de alta productividad y se extiende desde los 40°S hacia la región ecuatorial donde se mezcla con la zona de surgencias ecuatoriales, por su parte las surgencias de la costa de Baja California son ocasionadas por el flujo de aguas superficiales hacia el ecuador durante la primavera y el verano.

2.3.4 Características oceanográficas relacionadas con el atún aleta amarilla

Las condiciones ambientales y biológicas determinan la distribución del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental e influyen en su vulnerabilidad a la pesca. La distribución de los atunes depende principalmente de dos factores, la temperatura del agua y la disponibilidad del alimento (Blackburn 1964; Díaz 1992; Ortega, 1998).

Una de las variables ambientales mejor comprendida que interviene en la distribución y vulnerabilidad del atún aleta amarilla es la profundidad de la termoclina. Se ha observado que la vulnerabilidad del atún aleta amarilla aumenta conforme desciende la profundidad de la termoclina en dirección oeste-este a lo largo del ecuador, ya que los atunes se ubican en la parte inferior de la capa de mezcla, haciéndolos más vulnerables a la redes de cerco que alcanzan la zona inferior de la capa de mezcla (Wild, 1994).

Por otro lado, esta bien documentado que los efectos del fenómeno del Niño tienen una influencia negativa en la producción pesquera. Durante los eventos del Niño todas las corrientes del Pacífico tropical cambian en posición y fuerza (IATTC, 1984). El debilitamiento de los vientos alisios modifica las características oceanográficas del Pacífico oriental, elevando la temperatura, disminuyendo la productividad y modificando la profundidad de la termoclina (Miller y Laurs, 1975). En cierto grado, el movimiento de

agua relacionado con el fenómeno de el Niño, determina la distribución y la abundancia de los atunes (Suárez, 2004). Estas condiciones han propiciado en años anteriores decrementos importantes en la producción pesquera, aunque, se ha observado que la recuperación de las poblaciones y en consecuencia de las pesquerías es rápida (Joseph y Miller, 1988; IATTC, 1989; Suárez-Sánchez *et al.* 2004).

2.4 Genética de poblaciones

El estudio de la evolución es una disciplina compleja que se compone de una gran cantidad de teorías y métodos. Uno de los principales objetivos de este trabajo es explicar los procesos evolutivos a los que están sujetos la (s) población (es) de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental a través del estudio cuantitativo del proceso de adaptación, es decir, el estudio de la genética de poblaciones.

La base teórica de esta rama de la evolución se basa en el estudio del principio de Hardy-Weinberg, en el cual se postula que a partir de cualquier frecuencia genotípica inicial, las proporciones se mantendrán a la siguiente generación dada la relación $p^2+2pq+q^2= 1$. El modelo considera una serie de supuestos, que a su vez, asumen la ausencia de las principales fuerzas evolutivas que moldean la variabilidad genética: 1) el tamaño de las poblaciones es muy grande (ausencia de deriva génica), 2) todos los apareamientos son al azar (ausencia de endogamia), 3) todos los alelos son igual de competentes para dejar hijos (ausencia de selección natural) y 4) no llegan alelos nuevos (ausencia de mutación y migración) (Eguiarte, 1999).

La selección natural se puede definir como la sobrevivencia y reproducción diferencial de los individuos en una población, y se encarga de promover la adaptación de las especies a través del aumento en la adecuación (capacidad para generar progenie) de los organismos. En la mutación podemos encontrar el origen de todas las novedades y toda la variación genética que se da en los organismos, es un proceso lento, ya que la tasa de mutación de los organismos es muy baja. Por su parte, la migración es el proceso por el cual nuevos organismos se incorporan a una población, y se encuentra en función de la tasa de mutación (m) y las frecuencias génicas de los migrantes. La migración estabiliza a las poblaciones y dependiendo de su intensidad y el tiempo en el que se mantiene puede incluso propiciar que

dos poblaciones se vuelvan completamente homogéneas. La endogamia es el apareamiento entre individuos consanguíneos, que por lo general se lleva a cabo en poblaciones pequeñas y/o entre individuos con capacidades de dispersión reducida, dependiendo el nivel de consanguinidad y el número de eventos que se produzcan, la población perderá su heterocigosis, en mayor o menor grado. La última de las fuerzas evolutivas es la deriva génica, la cual es un evento azaroso que modifica drásticamente la frecuencias alélicas de una población e incluso puede ocasionar la fijación de cierto tipo de alelo. La deriva génica actúa con mayor fuerza en poblaciones pequeñas ya que depende directamente del número de individuos reproductivamente exitosos (tamaño efectivo poblacional $-N_e-$) contenidos en la población (Eguiarte, 1999).

Las fuerzas evolutivas antes expuestas actúan de forma simultánea configurando las frecuencias genotípicas de las poblaciones y en consecuencia modificando la adaptación de las poblaciones a su medio y es por esto que es de vital importancia monitorear estos cambios.

2.5 Estructura genética y asignación de *stocks* en las pesquerías

Establecer si dos muestras provienen del mismo o de diferentes *stocks* no es de ninguna forma una labor trivial, ya que el solo hecho de no encontrar un patrón de diferenciación claro entre las muestras analizadas no necesariamente significa ausencia de divergencia poblacional (Ward, 2000).

La determinación de los *stocks* en especies marinas, es especialmente complicada ya que la diferenciación promedio estimada entre poblaciones de peces marinos (F_{ST} promedio 0.062) es por mucho menor que la reportada para peces dulceacuícolas (F_{ST} promedio 0.222) y para peces anándromos (F_{ST} promedio de 0.108) (Ward *et al.* 1994). La cantidad de diferenciación es aún menor para algunos peces marinos, ya que algunas especies presentan niveles de diferenciación relativamente altos lo cual sobreestima el promedio, ya que la mediana de F_{ST} para los peces marinos se ubica en tan sólo 0.020 (Waples, 1998).

Debido a que la diferenciación genética entre poblaciones marinas que se espera y la que se observa es baja, resulta aún más difícil recuperar la señal de divergencia con un número de muestra reducido. Obtener réplicas temporales de los muestreos (Waples 1998), incrementar el número de muestras y de loci empleados, así como también utilizar

diferentes tipos de marcadores, son estrategias efectivas que pueden revelar más acerca de la heterogeneidad de las muestras y los patrones de flujo genético (O'Connell y Wright, 1997; Waples, 1998; Ward, 2000).

2.6 Genética poblacional del atún aleta amarilla

Scoles y Graves (1993) realizaron un estudio con cinco muestras del Pacífico y una del Atlántico utilizando RFLP y mtDNA, en donde a pesar de haber encontrado una gran cantidad de variación, no reportaron diferenciación genética entre océanos, y dentro Pacífico oriental entre muestras del norte y del sur del ecuador. Posteriormente Ward *et al.* (1994) analizaron cuatro aloenzimas polimórficas en muestras distribuidas en todo el Océano Pacífico y encontraron que el locus GPI-F* mostraba una señal débil pero significativa de diferenciación entre muestras del Océano Pacífico oriental, central y occidental.

Estos resultados fueron ratificados y ampliados en un estudio genético global de atún aleta amarilla conducido por Ward *et al.* (1997) utilizando aloenzimas y RFLP's de DNAm_t, en donde se reveló la existencia de al menos cuatro *stocks* en los tres mayores océanos del mundo; el *stock* del Atlántico, el *stock* del Índico, el *stock* del Pacífico central-occidental y el *stock* del Pacífico oriental.

Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2003) realizaron un estudio de divergencia poblacional con aloenzimas y RAPD, en 10 poblaciones del Océano Pacífico oriental, entre la isla de Cliperton y el Golfo de California. Los resultados obtenidos con las aloenzimas sugieren que la población de Golfo de California se encuentra aislada genéticamente. Sin embargo, el análisis de RAPD falló para detectar heterogeneidad de las frecuencias alélicas entre todas las poblaciones, longitudinalmente y latitudinalmente. Ely *et al.* (2005) trabajaron con cuatro poblaciones distribuidas en todo el mundo para su análisis filogeográfico y de estructura poblacional, con secuencias mitocondriales de la región control I (CR-I) y RFLP del gen ATCO. El CR-1 mostró un alta diversidad haplotípica, pero las secuencias no mostraron evidencias de diferenciación genética entre el Atlántico y el Indo-Pacífico. No obstante, de forma opuesta, el análisis de RFLP reveló pequeños niveles de diferenciación genética entre las poblaciones del Atlántico y el Pacífico.

Los estudios del *stock* de atún aleta amarilla en el océano Índico son ambiguos y contradictorios. El atún aleta amarilla en el Océano Índico es actualmente considerado como un sólo *stock* (IOTC, 2006). Algunos estudios genéticos analizaron muestras (n=40) de sitios alejados al oriente y occidente del Océano Índico utilizando marcadores de DNAm_t (Chow *et al.* 2000) y DNAn (Nishida *et al.* 2001) pero ninguno de los estudios reportó evidencias de diferencias significativas entre las muestras. Sin embargo, un estudio reciente logro probar la existencia de estructura genética del atún aleta amarilla a pequeña escala (Dammannagoda *et al.* 2008) en 6 poblaciones de las zonas de pesca alrededor de Sri Lanka y una población en las islas Maldivas, utilizando DNAm_t (región del gen *ATPasa*) y tres loci de microsatélites tetranucleótidos.

Appleyard *et al.* (2001) utilizaron seis microsatélites dinucleótidos para medir la diversidad genética en seis poblaciones del Pacífico occidental y dos del Pacífico oriental que utilizaron como grupo externo. En este estudio no se logró determinar la estructura genética de la región occidental ya que tan solo uno de los seis microsatélites reveló diferencias significativas entre las poblaciones, mientras que las dos muestras del Pacífico oriental no mostraron ningún patrón de diferenciación.

En un estudio reciente utilizando cinco microsatélites tetranucleótidos y dos dinucleótidos Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006) probaron la existencia de diferencias significativas entre cuatro poblaciones del norte-ecuador y una población del sur en el Océano Pacífico oriental. La diferencia encontrada en este estudio se propone que tienen su origen en la ocurrencia diferencial del desove al norte y sur del ecuador. Sin embargo, no se descarta que los resultados encontrados se deban a un muestreo no aleatorio o bien a la falta de réplicas temporales.

III. Objetivos

General: Definir la presencia de estructura genética poblacional del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el Océano Pacífico oriental, a través del análisis de la distribución espacial de la variabilidad genética estimada mediante microsatélites.

Particulares:

- Obtener los perfiles electroforéticos para cuatro microsatélites en los sitios de muestreo del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental
- Estimar la diversidad genética en los diferentes muestreos temporales y espaciales.
- Determinar la homogeneidad temporal de las frecuencias genotípicas y alélicas en los diferentes sitios de muestreo.
- Probar el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg de las frecuencias genotípicas, así como el exceso o deficiencia de heterocigotos.
- Determinar los niveles de divergencia genética mediante un análisis de AMOVA y mediante el estadístico F_{st} entre pares de muestras.
- Determinar la probabilidad de significancia de la heterogeneidad de frecuencias alélicas entre pares de muestras mediante pruebas exactas.
- Estimar el tamaño efectivo poblacional (N_e) y compararlo con el tamaño poblacional censo.
- Analizar la cantidad y los patrones de flujo genético entre las poblaciones
- Aumentar el conocimiento sobre la diversidad genética del atún aleta amarilla para diseñar planes de manejo que persigan la sustentabilidad del recurso
- Proponer posibles estrategias de conservación y manejo del recurso

IV. Justificación

La pesquería del atún aleta amarilla representa una fuente de ingresos y de alimentación muy importante para un gran sector de la población que se beneficia de ella en el Océano Pacífico oriental y en particular en México. En el Pacífico oriental este recurso, aunque presenta una gran abundancia y una amplia distribución, está considerado en el estatus de completamente explotado y no se descarta que su abundancia pudiera decrecer súbitamente generando repercusiones económicas, sociales y naturales. Es por esto, que es de vital importancia dirigir esfuerzos para implementar planes de manejo eficientes que garanticen su sustentabilidad.

Actualmente el atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental está considerado como una población panmíctica en la cual no existe divergencia poblacional en toda la zona que lo comprende. Sin embargo, existen indicios para suponer que las poblaciones pudieran presentar algún grado de divergencia hacia el norte y al sur de su distribución, en zonas de desove estacional durante el verano.

Datos morfométricos, de marcaje, y la evidencia de desove diferencial, sugieren que un proceso de divergencia podría estar ocurriendo. Este tipo de estudios proveen evidencias importantes sobre los movimientos y el comportamiento de los individuos, pero por sí solos no son capaces de elucidar la condición genética de las poblaciones, por lo que es de vital importancia utilizar datos genéticos.

En el presente estudio se evaluará la estructura genética poblacional del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental, utilizando cuatro loci de microsatélites tetranucleótidos con la finalidad de corroborar los hallazgos realizados previamente por Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006) en donde se propone la existencia de dicha divergencia. Se incluirán réplicas temporales de los muestreos para evaluar el efecto de diferenciación genética temporal y de esta forma descartar errores en el muestreo.

V. Materiales y Métodos

5.1 Obtención de muestras

Un total de 340 muestras de tejido de atún aleta amarilla de 6 localidades fueron colectadas en diferentes localidades del Pacífico Oriental Tropical y que son mostradas en la Tabla 2 y Fig. 12. Los tejidos se colectaron durante el desembarque de los organismos en pesquerías comerciales y deportivas y mediante el apoyo del programa de observadores de la Comisión Interamericana del Atún Tropical (IATTC) y preservadas en alcohol al 70%, para su análisis con diversos marcadores moleculares. La base de datos de microsátélites de una muestra de Perú colectada en 2002 y reportados en Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006), fue incorporada al análisis con el fin de contar con el referente de variación genética temporal para esa localidad.

Tabla 2. Muestreos de atún aleta amarilla.

| Sitio de Colecta. | N | Año | Abreviación | |
|-------------------|-----|------|-------------|-----------------|
| Oaxaca | 37 | 2004 | Oax04 | 15.29°N/96.46°O |
| Oaxaca | 127 | 2005 | Oax05 | 15.24°N/96.34°O |
| Ecuador | 50 | 2004 | Eco04 | 4.12°N/122.4°O |
| Perú | 49 | 2002 | Pe02 | 17.44°S/80.61°O |
| Perú | 50 | 2005 | Pe05 | 17.64°S/81.1°O |
| Atlántico | 27 | 1990 | At90 | 33.44°N/75.46°O |

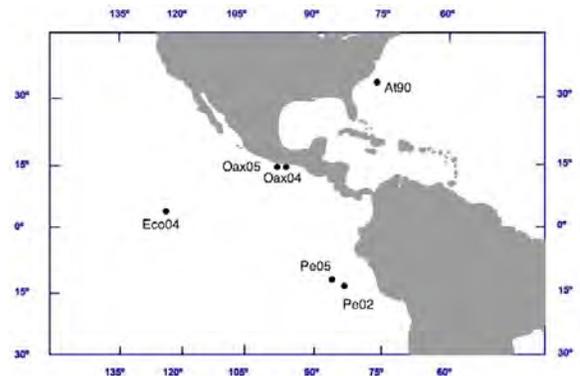


Figura 12. Ubicación espacial de las muestras utilizadas.

5.2 Trabajo de Laboratorio

Extracción de DNA genómico.

Las muestras fijadas en alcohol se extrajeron según el protocolo de Chris-Lysis (Laird *et al.* 1991), en la cual el tejido es disuelto en un buffer de *Lysis* (100mM Tris.HCl pH 8.5, 5mM EDTA, 0.2% SDS, 200 mM NaCl), adicionado con proteinasa K (Invitrogen) para eliminar

todos las grasas y proteínas, y posteriormente someter a la muestra a un proceso de dos lavados con isopropanol y etanol, para finalmente ser resuspendida en una solución de hidratación TE (10mM Tris.HCl, 0.1 mM EDTA; pH 7.5). Posteriormente se comprobó la calidad del DNA con 5µL de la extracción (*stock*) y 5µL de azul de bromofenol en un gel de agarosa ultra-pura (Invitrogen) al 1% teñido con Bromuro de Etidio, en un transiluminador UV. Todas las extracciones fueron almacenadas a -4°C.

Microsatélites.

Se utilizaron cuatro microsatélites Tth5, Tth10, Tth21 y Tth34 (Tabla 3), diseñados para atún aleta azul, *Thunnus thynnus thynnus*, por McDowell *et al.* 2002, en Virginia Institute of Marine Science, School of Marine Science, College of William and Mary, los cuales probaron su eficacia para el análisis de variación en el atún aleta amarilla.

Tabla 3. Cuatro microsatélites trabajados. Secuencia de ida (F) 5'-3' y regreso (R) 3'-5'. T_a es la temperatura de alineación de los oligonucleótidos en °C.

| Nombre | Fragmento Repetido | Secuencia | T _a (°C) | Rango de Tamaño (pb) |
|--------|---------------------|--|---------------------|----------------------|
| Tth-5 | (CTGT) ₄ | F: AGGGGGTGGACAAAATAAAAGG R: TGGGAGTGGAGAATGACAGGAGAG | 56 | 108-144 |
| Tth-10 | (GACA) ₆ | F: GCTGAGCACGCATTTACTGTAG R: CGTCACAACCTTCCAACCTCG | 55 | 112-124 |
| Tth-21 | (GACA) ₅ | F: GACAGAGAGACAGAGAGAAGGGGAGGACA R: CACAGAGTTGATAACAGCGGCAG | 64 | 120-140 |
| Tth-34 | (CTGT) ₇ | F: GATGCCATTTCTCTGTCTATCTG R: AAGCCGTTCCCTCAGTGTC | 58 | 88-148 |

Amplificación de microsatélites por PCR.

Los microsatélites fueron amplificados mediante la cadena de reacción de la polimerasa (PCR, por sus siglas en ingles), mediante un termociclador (Eppendorf, Mastercycler gradient y/o Termo, Px2 Thermal cycler), en volúmenes totales de 10 µL.

Tabla 4. Reacciones de amplificación individuales para cada uno de los microsatélites.

| Reactivo | Fabricante | Cantidad de Reactivo para cada microsatélite (volumen final de 10 μ L) | | | |
|---------------------|----------------|--|--------------|--------------|--------------|
| | | Tth5 | Tth10 | Tth21 | Tth34 |
| Agua Ultrapura | Millipore | 7.87 μ L | 7.97 μ L | 7.97 μ L | 8.19 μ L |
| 10 X PCR Buffer | Invitrogen | 20 mM Tris-HCl (pH 8.4), 50 mM KCl | | | |
| MgCl ₂ | Invitrogen | 3 mM | 3 mM | 3 mM | 1.5 mM |
| DNTP's 2.5 mM | Invitrogen | 0.08 mM | 0.08 mM | 0.08 mM | 0.08 mM |
| Primer ida | IBT/Invitrogen | 10 pM | 5 pM | 5 pM | 10 pM |
| Primer vuelta | IBT/Invitrogen | 10 pM | 5 pM | 5 pM | 10 pM |
| Taq Polimerasa | Invitrogen | 1 U | 1 U | 1 U | 1 U |
| DNA genómico (1:20) | ICMyL | 0.2 μ L | 0.2 μ L | 0.2 μ L | 0.2 μ L |

La amplificación de los loci se realizó mediante un ciclo inicial de desnaturalización a 95°C por un minuto, seguido por 35 ciclos de 95°C por cuatro minutos, 94°C por un minuto, de 56-64°C (Tabla 3) de alineación por un minuto y extensión a 72°C por un minuto y un ciclo de extensión final a 72°C por siete minutos. La cantidad de reactivos para cada uno de los microsatélites se detalla en la Tabla 4.

Los productos de amplificación fueron sometidos a una prueba de calidad y tamaño cargando 5 μ L del producto con 5 μ L de azul de bromofenol junto con un marcador molecular de 1Kb, en un gel de agarosa ultra-pura (Invitrogen) al 3% teñido con bromuro de etidio. La visualización se realizó en un transiluminador de luz ultravioleta.

Separación de fragmentos en geles de Poliacrilamida.

A los productos de amplificación se les agrego un volumen de 5 μ L de Formamida (Sigma-Aldrich) para ser desnaturalizados a 96°C durante dos minutos seguido de una incubación en hielo hasta ser cargados en el gel de poliacrilamida. Se cargaron 3.5 μ L de la reacción de PCR en un gel de poliacrilamida al 6 % (Apéndice I) con Buffer TBE 1X (45 mM Tris-Base, 45 mM Ácido Bórico, 1.0 mM EDTA y H₂O; pH 8.0) en una cámara de secuenciación vertical (SequiGen GT, BioRad). En cada uno de los extremos se cargaron dos marcadores moleculares de 10 pb (Invitrogen Cat: 10821-015) y 25 pb (Invitrogen Cat: 10597-011). Conjuntamente en cada uno de los geles se colocaron 4 controles positivos consistentes de muestras representativas de los alelos más comunes para cada loci y que se determinaron previamente por Diaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006).

Los geles se tiñeron con Nitrato de Plata siguiendo el protocolo de Creste *et al.* 2001 (con pequeñas modificaciones) el cual comprende un total de 8 pasos que se pueden llevar a cabo en aproximadamente 47 minutos (Apéndice II). Una vez teñidos los geles se fotografiaron con una cámara digital (Canon PowerShot A470) (Apéndice III).

La lectura de los geles se realizó mediante imágenes digitales directamente de la pantalla de la computadora, siguiendo una rigurosa secuencia de estandarización de tamaño para disminuir la probabilidad de error. En primer lugar, se determinó el tamaño en pares de bases (pb) de las muestras control tomando como referencia el marcador molecular empleado, y posteriormente se contrastó con la base de datos que contenía los tamaños exactos de los fragmentos. A continuación se determinó el tamaño del resto de las muestras tomando como referencia, tanto las muestras control, como los marcadores moleculares, asegurándose de que la medición fuera congruente.

5.3 Análisis estadístico

1. Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg

Se evaluó la probabilidad de la presencia de alelos nulos, de la dominancia de alelos pequeños (por errores de amplificación de alelos grandes), así mismo de errores ocasionados por *stuttering* (error en la síntesis de la polimerasa durante el PCR en el que se amplifica artificialmente bandas más pequeñas o grandes, que el tamaño real de microsatélite) con el programa de cómputo MICRO –CHECKER (Van Oosterhout *et al.* 2004).

Se estimó si las muestras se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) por locus y población; el ajuste de las frecuencias genotípicas observadas respecto de las esperadas se verificó mediante una prueba exacta de Fisher (Guo y Thomson, 1992) aplicando una aproximación de Monte-Carlo para verificar la significancia de la prueba, con el programa de cómputo GENEPOP v.3.1 (Raymond y Rousset, 1995).

2. Análisis de diversidad genética

Para evaluar la diversidad genética de las poblaciones, se obtuvieron para cada locus y localidad el número promedio de alelos, el número efectivo de alelos, la riqueza alélica, la heterocigosis observada y esperada, las frecuencias alélicas y la Heterocigosis media por

loci y la total. Estos valores fueron estimados mediante los programas de cómputo GENALEX v.6 (Peakall y Smousse, 2006) y ARLEQUIN 2.0 (Schneider *et al.* 2002).

Se realizó una prueba exacta de probabilidad de desequilibrio de ligamiento de todos los loci con el programa de cómputo GENEPOP v.3.1 (Raymond y Rousset, 1995). Esta prueba mide si dos locos se comportan como unidades independientes a través de una prueba pareada.

3. Análisis de divergencia poblacional

Se realizó una prueba exacta de diferenciación poblacional con el programa de cómputo GENEPOP v.3.1 (Raymond y Rousset, 1995) la cual prueba la hipótesis nula de que k genotipos se distribuyen de forma aleatoria en r poblaciones utilizando tablas de contingencia 2×2 siguiendo la prueba exacta de Fisher.

Con el fin de estimar la divergencia genética entre poblaciones, se obtuvieron los estadísticos F de Wright, F_{ST} , F_{IS} y F_{IT} (Wright, 1951) y los análogos Rho (Slatkin, 1995) para cada locus mediante el programa de cómputo GENEPOP v.3.1 (Raymond y Rousset, 1995). Los estadísticos jerárquicos F miden la probabilidad de que dos pares de alelos tomados al azar sean iguales, en tres casos particulares: de los individuos con respecto a la subpoblación (F_{IS}), de los individuos con respecto al total de la población (F_{IT}) y de las subpoblaciones con respecto al total de la población (F_{ST}). Los análogos R_{IS} , R_{IT} y R_{ST} tienen la misma finalidad que los estadísticos F , pero las consideraciones teóricas y técnicas varían entre uno y otro. En primer lugar cada uno de los estadísticos trabaja con un modelo mutacional diferente, la obtención de los estadísticos F supone el modelo de sitios infinitos (Kimura y Crow, 1964) de modo que el proceso mutacional posee una gran relevancia, mientras que para los estadísticos Rho se utiliza el modelo de mutación de un paso (Kimura y Ohta, 1978) por lo que es independiente de la tasa de mutación. De igual forma cada uno de los estadísticos considera a los alelos bajo una perspectiva diferente, el estadístico F trabaja con la varianza de los estados alélicos, propiedad que ocasiona que no se puedan considerar homoplasias en dos diferentes poblaciones, mientras que los estadísticos Rho consideran las diferencias en los tamaños de los alelos, por lo que es posible explicar la similitud de dos muestras a través de la aparición de homoplasias (Balloux y Lugon-Moulin, 2002).

Se evaluó el grado de subdivisión poblacional a través de la prueba de F_{ST} con el programa FSTAT 2.3.9 (Goudet, 2002) para hacer comparaciones mediante F_{st} entre todos los pares de poblaciones (sin asumir H-W y con 15000 permutaciones). Con la finalidad de esclarecer el grado de la estructura genética de las poblaciones con las que se trabajo, se realizó un Análisis de Variación Molecular (AMOVA por sus siglas en inglés, Excoffier *et al.* 1992) con el programa de cómputo ARLEQUIN 2.0 (Schneider *et al.* 2000). La AMOVA es una prueba jerárquica de los niveles de variación entre grupos (F_{CT}), entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC}) y entre individuos en las poblaciones (F_{IS}), que a la vez, proporciona niveles de probabilidad estadística a través de un proceso de permutación no-paramétrico (Excoffier *et al.* 1992), se realizaron 15,000 permutaciones para obtener la probabilidad de significancia de las estimaciones.

El parámetro elegido para el AMOVA fue el estadístico convencional F (Weir y Cockerham, 1984) y las poblaciones se agruparon considerando su cercanía espacial de tal forma que fuera posible poner a prueba la hipótesis propuesta en este estudio. La forma en la que se agruparon a las poblaciones fue la siguiente: Norte (Oaxaca 2004 y 2005), Sur (Perú 2002 y 2005), Ecuador (Ecuador 2004) y Atlántico (Océano Atlántico 1990).

Se realizaron tres diferentes pruebas; en la primera se probó la estructura de todos los grupos (Norte v/s Sur v/s Ecuador v/s Atlántico), sin embargo para analizar cómo se conforma la estructura genética en el Pacífico oriental, para la segunda prueba se excluyó la muestra del Atlántico (Norte v/s Sur v/s Ecuador) y finalmente, como presumiblemente la muestra de Ecuador conforma una zona de mezcla se realizó una tercer prueba en donde se constataron únicamente las muestras provenientes del sur y del norte (Norte v/s Sur).

Cuando se trabaja con microsatélites es importante discernir cual de los estadístico para medir diferencias poblacionales es el más apropiado (F_{ST} v/s R_{ST}), a pesar de que existen diferentes consideraciones teóricas. Para poder decidir qué estadístico utilizar, es importante contar con un acercamiento a los datos reales del estudio. Hardy *et al.* (2003) diseñaron una prueba que revela cuál de los dos estadísticos es el más informativo utilizando los datos del estudio, prueba que está implementada en el programa de cómputo SPaGeDi 1.2 (Hardy y Vekemans, 2002). Se basa en el principio de probar la hipótesis nula de que las diferencias en el tamaño de los alelos no contribuyen a la diferenciación poblacional. En ella se realizan pruebas aleatorias para determinar si las mutaciones que

siguen un patrón parecido al modelo de un paso contribuyen a la diferenciación genética. Si se obtiene una prueba no significativa lo más probable es que el estadístico F_{ST} sea más informativo que el R_{ST} , en otras palabras que es más probable que los estadísticos que se basan en los estados alélicos tengan un mejor desempeño que los estadísticos que utilizan los tamaños alélicos (Hardy *et al.* 2003). La prueba dio como resultado que el estadístico F es el más indicado para este conjunto de datos en particular por lo que, en consecuencia, se optó por utilizar este estimador para analizar el nivel de divergencia entre las poblaciones.

Se utilizó una matriz de distancias genéticas D de Nei (1978) en el programa MICROSATELLITE ANALYSER (MSA) (Dieringer y Schlötterer, 2003) las cuales fueron empleadas para construir un dendograma por medio del modelo de *Neighbor-Joining* (Saitou y Nei, 1987) en el programa MEGA 4 (Tamura *et al.* 2007).

Con la finalidad de probar la estructura poblacional y establecer la asignación de cada individuo a un deme genético se utilizó el programa de cómputo STRUCTURE v2.2 (Pritchard *et al.* 2000). Este programa asume un número K de poblaciones que se caracterizan por tener un conjunto de frecuencias alélicas en cada locus, de modo que los individuos son asignados (por probabilidad) a la (s) población (es). En un principio se evaluó el modelo de mezcla, el cual asume que cada individuo se origina de una sola población ancestral (Pritchard *et al.* 2000), el cual es considerado como el mejor modelo cuando se intenta resolver la estructura de poblaciones íntimamente relacionadas (Flaush *et al.* 2003). Enseguida se utilizó el modelo de información poblacional en el cual se incluye la procedencia (asignada según la zona de captura) de cada individuo. Finalmente, para los dos modelos se realizó la prueba *ad hoc* ΔK de Evanno *et al.* (2005) que estima la tasa de cambio de la probabilidad de la verosimilitud con respecto de K . Los parámetros utilizados en ambos casos fueron: el modelo de frecuencias alélicas correlacionadas y se estimó la existencia de 1 a 10 poblaciones (K) evaluadas a través de 30 iteraciones independientes cada una con 25,000 iteraciones en el periodo de calentamiento (*Burn in*) seguido de 25,000 cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC).

4. Estimación de tamaño efectivo poblacional y flujo genético

Se utilizó el programa MIGRATE 3.0 (Beerli, 2008) para obtener el tamaño efectivo poblacional a través de la estimación de theta, derivada de la fórmula $\theta = 4N_e\mu$, donde N_e es

el tamaño efectivo poblacional y μ la tasa de mutación y para obtener la tasa de migración M , con la fórmula $M=m/\mu$, donde m es la tasa de migración por generación. Los valores se estimaron bajo el método de máxima verosimilitud (*Maximum Likelihood*) y considerando el modelo de evolución gradual para microsatélites (*ladder model*). El programa realiza las estimaciones de los parámetros con base en máxima probabilidad y mediante la aplicación de un método de Monte Carlo basado en Cadenas de Markov (MCMC; Beerli, 2008). La estrategia empleada consistió en la aplicación de 10 cadenas cortas con 1000 genealogía muestreadas cada 20 árboles y 4 cadenas largas con 5000 genealogías muestreadas cada 20 árboles. Los primeros 10000 árboles en cada cadena fueron desechados durante el proceso de calentamiento (*burn-in*). El programa MIGRATE calcula una serie de probabilidades de parámetros genéticos, como por ejemplo tamaños poblacionales y tasas de migración, integrando todas las posibles relaciones de los datos utilizando la teoría de la coalescencia, suponiendo un modelo de n poblaciones (islas) en donde existe un equilibrio entre la mutación-migración y la deriva génica (Beerli, 2008).

Para la obtención del estimador theta se realizaron cinco corrimientos del programa y se promediaron los valores. Con la finalidad de esclarecer si los valores de θ difieren significativamente entre las localidades se realizó una prueba de ANOVA de una sola vía y posteriormente se realizaron las comparaciones por pares de localidades a través de una prueba de múltiples comparaciones de Tukey HSD en el programa de cómputo STATISTICA 6.0 (StatSoft).

5. Estimación del poder estadístico

Existen muchos factores que pueden afectar el poder estadístico de las pruebas: el número de individuos muestreados, el número y el tipo de loci utilizados, el número de alelos encontrados y su distribución, entre otros, por lo que se espera que las diferentes pruebas estadísticas no tengan el mismo poder (Ryman y Jorde, 2001). Para resolver el poder estadístico de los datos reales Ryman y Palm (2006) diseñaron un programa de computo POWSIM, el cual es capaz de generar datos al azar de subpoblaciones que divergieron a partir de una población base, de forma que cada subpoblación es muestreada y sometida a una prueba de homogeneidad, de la cual los valores de probabilidad son utilizados para

estimar el poder estadístico en las condiciones actuales, proporcionando una idea del poder estadístico que tienen los datos en las pruebas de exacta de Fishers's y la prueba tradicional de X^2 . El programa trabaja bajo el modelo clásico de Wright-Fisher sin mutación ni migración con una base inicial de una población infinita que segrega s subpoblaciones de tamaño efectivo poblacional (N_e) igual, a través de un muestreo al azar de $2N_e$ genes. De modo que en cada subpoblación se simula varios eventos de deriva génica por t generaciones, y consecuentemente el grado de divergencia esperada en la generación t es $F_{ST}=1-(1-1/2N_e)^t$, el proceso es repetido muchas veces en r número de corridas independientes (Ryman y Palm, 2006).

POWSIM también estima la probabilidad de caer en error estadístico de tipo I (probabilidad de rechazar H_0 cuando es verdadera) con una segunda prueba muy similar a la que detecta el poder estadístico, eliminando el proceso de deriva génica, y estimándolo directamente de la población base (Ryman y Palm, 2006).

Se realizaron dos escenarios para determinar las condiciones en las que se estimó el poder estadístico de los datos y la probabilidad de caer en el error tipo I: 1) se considero el tamaño efectivo poblacional estimado para el atún patudo (*Thunnus obesus*) en el Océano Pacífico (el cual presenta una distribución y una historia de vida prácticamente idéntica a la del aleta amarilla) la cual fue estimada utilizando una tasa de 10^{-4} ($N_e=4,175$) (Gonzalez *et al.* 2008), y 2) se utilizaron los valores de tamaño efectivo poblacional obtenidos con nuestros datos considerando una tasa de mutación de 10^{-4} ($N_e=12,331$). Para todos los escenarios se estimaron los valores para dos periodos generacionales $t=25$ y $t=45$ ($t=0$ para la segunda prueba) y se realizaron 450 corrimientos en todos los casos.

VI. Resultados

6.1 Prueba de equilibrio de H-W y diversidad genética.

Se analizaron los genotipos de 340 individuos de atún aleta amarilla provenientes del Océano Pacífico oriental mediante cuatro loci de microsatélites, los cuales funcionaron satisfactoriamente presentando 100% de polimorfismos. Con los cuales fue posible detectar un número alto de genotipos con una eficacia de más del 90% en todos los casos.

El programa MICRO –CHECKER (Van Oosterhout *et al.* 2004) reveló que ninguna de las muestras presentaba alelos nulos, dominancia de alelos pequeños o errores ocasionados por *stuttering*, con una probabilidad de $P < 0.01$. Esto indicó que se podía confiar en la amplificación e interpretación de los alelos para todos los locus y todas las poblaciones y con ello se pudo proceder a realizar el análisis de la variabilidad genética.

El número de alelos varía entre 3 (Tth10 y Tth21) y 16 (Tth34) con un promedio de 6.6 alelos por locus, siendo las localidades de Ecuador y del Atlántico las que presentan un menor número promedio de alelos (5.5), mientras que la localidad de Perú es la que presenta el mayor (8.75). De igual forma el número efectivo de alelos es variable, podemos observar que la población que presenta el menor número efectivo de alelos es la de Oaxaca 2004 con 1.25 (Tth21), mientras que la que registra el mayor número es el Atlántico con 6.26 (Tth34). Es importante resaltar la distinción que hay entre el número de alelos distintos y el número efectivo de alelos; el número de alelos distintos es el número total de alelos presentes en un locus, mientras que el número efectivo de alelos es el número de alelos que tendrían el mismo nivel de heterocigosidad si todos tuvieran la misma frecuencia (Frankham *et al.* 2002). Las diferencias encontradas entre estos dos valores son consistentes, lo cual indica que las frecuencias alélicas no se distribuyen uniformemente entre las diferentes localidades. Esto es evidente cuando se observan alelos que son, por mucho, menos frecuentes que otros, lo cual a su vez, produce una baja incidencia de alelos únicos. Por otro lado la riqueza alélica es similar entre las poblaciones siendo la localidad de Perú la que registra el promedio más alto (6.146) y la de Ecuador 2004 el menor (4.943) (Tabla 5).

Los valores de heterocigosis esperada y observada varían entre 0.255 y 0.857 (promedio= 0.540) y entre 0.222 y 0.885 (promedio= 0.528), respectivamente. La localidad de Perú posee los valores más bajos de heterocigosis observada y esperada, mientras que la población del Atlántico es la que posee la cifra más alta. La prueba de equilibrio de Hardy Weinberg muestra que en tres ocasiones (15%) la prueba de probabilidad de desviaciones del equilibrio de H-W fue significativa: Oaxaca 2004 en los loci Tth10 y Tth34 presenta un exceso de heterocigos, mientras que la localidad de Perú en el loci Tth34 se desvía de equilibrio de H-W a causa de un déficit de heterocigos, como lo comprueban los valores del índice de fijación (Tabla 5). Ninguno de los casos en los que se observaron desviaciones del equilibrio de H-W se debió a la presencia de alelos nulos ($P < 0.01$) según lo encontrado con la prueba realizada en el programa de cómputo MICRO –CHECKER (Van Oosterhout *et al.* 2004).

La prueba de ligamiento de los loci resultó no significativa en todas las comparaciones (no se muestran los resultados), evidenciando que los cuatro loci se comportan como unidades independientes.

Tabla 5. Variación genética y prueba de equilibrio de H-W. Se indica para cada loci y localidad: (N) número de individuos, (N_A) número de alelos, (n_e) número efectivo de alelos, (R) riqueza alélica, (H_E) heterocigosis esperada, (H_O) heterocigosis observada, (H-W) prueba de probabilidad para el equilibrio de H-W. (f) Índice de fijación. (Ht) Heterocigosis por locus. Los valores resaltados con **negritas** indican desviación del equilibrio de H-W ($P < 0.05$).

| Localidad | | Tth5 | Tth10 | Tth21 | Tth34 | Promedio |
|-------------|-------|---------|----------------|---------|----------------|----------|
| Oax04 | N | 37 | 37 | 36 | 34 | 36 |
| | N_A | 6 | 4 | 3 | 11 | 6 |
| | n_e | 2.77 | 1.49 | 1.25 | 5.59 | 2.77 |
| | R | 5.616 | 3.450 | 2.938 | 10.184 | 5.547 |
| | H_E | 0.66938 | 0.35913 | 0.25509 | 0.83406 | 0.530 |
| | H_O | 0.72973 | 0.37838 | 0.22222 | 0.88235 | 0.553 |
| | H-W | 0.97179 | 0.00907 | 1.00000 | 0.00153 | |
| | f | -0.140 | -0.136 | -0.093 | -0.074 | -0.0813 |
| Oax05 | N | 127 | 127 | 125 | 123 | 125.5 |
| | N_A | 9 | 3 | 5 | 12 | 7.25 |
| | n_e | 2.04 | 1.79 | 1.73 | 5.74 | 2.83 |
| | R | 5.701 | 2.974 | 3.715 | 9.401 | 5.447 |
| | H_E | 0.50036 | 0.44480 | 0.42724 | 0.82927 | 0.550 |
| | H_O | 0.47244 | 0.51181 | 0.38400 | 0.77236 | 0.530 |
| | H-W | 0.68522 | 0.18744 | 0.70666 | 0.45227 | |
| | f | 0.046 | -0.156 | 0.070 | 0.065 | 0.0240 |
| Perú | N | 98 | 98 | 96 | 96 | 97 |
| | N_A | 10 | 4 | 5 | 16 | 8.75 |
| | n_e | 1.98 | 1.46 | 1.62 | 6.1 | 2.79 |
| | R | 6.498 | 2.952 | 3.946 | 11.188 | 6.146 |
| | H_E | 0.50382 | 0.31497 | 0.37980 | 0.83868 | 0.509 |
| | H_O | 0.45918 | 0.31633 | 0.38542 | 0.79167 | 0.488 |
| | H-W | 0.43332 | 1.00000 | 0.84238 | 0.00784 | |
| | f | 0.071 | -0.009 | -0.028 | 0.051 | 0.0212 |
| Eco04 | N | 49 | 49 | 46 | 45 | 47.25 |
| | N_A | 6 | 3 | 3 | 10 | 5.5 |
| | n_e | 1.92 | 1.83 | 1.56 | 5.34 | 2.66 |
| | R | 5.010 | 2.800 | 2.930 | 9.030 | 4.943 |
| | H_E | 0.49821 | 0.47065 | 0.36288 | 0.83720 | 0.542 |
| | H_O | 0.51020 | 0.38776 | 0.32609 | 0.77778 | 0.500 |
| | H-W | 0.33913 | 0.31828 | 0.25896 | 0.07050 | |
| | f | -0.065 | 0.143 | 0.144 | 0.072 | 0.0615 |
| At90 | N | 26 | 27 | 26 | 26 | 26.25 |
| | N_A | 5 | 3 | 3 | 11 | 5.5 |
| | n_e | 2.23 | 1.56 | 1.65 | 6.26 | 2.93 |
| | R | 4.850 | 2.970 | 3.000 | 10.605 | 5.356 |
| | H_E | 0.58974 | 0.39483 | 0.43658 | 0.85671 | 0.569 |
| | H_O | 0.46154 | 0.44444 | 0.45455 | 0.88462 | 0.561 |
| | H-W | 0.28516 | 0.71101 | 0.36784 | 0.32776 | |
| | f | 0.164 | -0.237 | -0.155 | -0.053 | -0.0248 |
| Total locus | Ht | 0.533 | 0.375 | 0.365 | 0.837 | 0.528 |

6.2 Análisis de divergencia poblacional

El valor total de $F_{ST} = 0.0038$ ($P = 0.0328$) (Tabla 6) obtenido es bajo en comparación a la media y a la mediana reportada para especies marinas, 0.062 y 0.020, respectivamente (Ward, 1994; Waples, 1998) y con diferentes especies de peces pelágicos: bacalao del Atlántico, arenque del atlántico y diferentes especies de truchas (Tabla 7).

Tabla 6. Valor de F_{ST} para cada locus y global. Los valores significativos están resaltados con **negritas** ($P < 0.05$).

| Locus | F_{ST} | Probabilidad |
|-------|----------|---------------|
| Tth5 | 0.0025 | 0.6258 |
| Tth10 | 0.0128 | 0.0074 |
| Tth21 | 0.0064 | 0.0080 |
| Tth34 | -0.0007 | 0.4871 |
| Total | 0.0038 | 0.0328 |

Tabla 7. Reportes de niveles de diferenciación promedio F_{ST} (Weir y Cockerham, 1984) o estimadores análogos, para diferentes especies de peces con diferentes marcadores moleculares.

| Especie | Aloenzimas | NRFLPs | mtDNA | Minisatélites | Microsatélites |
|---|------------|-----------|-----------|---------------|----------------|
| Bacalao del Atlántico, <i>Gadus morhua</i> | 0.014 | 0.069 | N/A | 0.030 | 0.035 |
| Salmón del Atlántico, <i>Salmo salar</i> | 0.064 | Sin datos | 0.106 | 0.036 | 0.028 |
| Trucha Arcoíris, <i>Oncorhynchus mykiss</i> | 0.080 | Sin datos | Sin datos | 0.049 | 0.016 |
| Trucha Café, <i>Salmo trutta</i> | 0.190 | Sin datos | 0.309 | 0.174 | Sin datos |
| Arenque del Pacífico, <i>Clupea harengus</i> | 0.014 | Sin datos | Sin datos | Sin datos | 0.023 |
| Trucha salmonada, <i>Salvelinus fontinalis</i> | 0.232 | Sin datos | 0.128 | Sin datos | 0.515 |

Modificada de O'Connell y Wright, 1997.

Sin embargo es similar a los valores reportados previamente para el atún aleta amarilla (Appleyard *et al.* 2001; Ely *et al.* 2005; Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006;

Dammannagoda *et al.* 2008) y otras especies de atunes de importancia comercial como el atún aleta azul del Atlántico (Carlsson *et al.* 2004), el atún patudo (Gonzalez *et al.* 2008) y el barrilete (Ely *et al.* 2005) (Tabla 8).

Los valores de F_{ST} por locus muestran que la señal de diferenciación proviene de los microsátelites Tth10 y Tth21, los cuales resultaron ser significativos (Tabla 6).

Tabla 8. F_{ST} obtenidos anteriormente para diferentes especies de atunes y similares.

| Especie | Marcador | F_{ST} | Referencia |
|---|----------------|---------------------|-----------------------------------|
| Atún aleta amarilla (<i>Thunnus albacares</i>) | Microsátelites | 0.002 | Appleyard <i>et al.</i> 2001 |
| | mtDNA | $\phi_{ST}= 0.002$ | Ely <i>et al.</i> 2005 |
| | Microsátelites | 0.008 | Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006 |
| Atún aleta azul del Atlántico (<i>Thunnus thynnus thynnus</i>) | Microsátelites | 0.0025 | Dammannagoda <i>et al.</i> 2008 |
| | Microsátelites | 0.0023 | Carlsson <i>et al.</i> 2004 |
| Atún patudo (<i>Thunnus obesus</i>) | Microsátelites | 0.007 | Gonzalez <i>et al.</i> 2008 |
| Barrilete (<i>Katsuwonus pelamis</i>) | mtDNA | $\phi_{ST}= -0.003$ | Ely <i>et al.</i> 2005 |

Al comparar las localidades por pares se encontraron diferencias significativas temporales entre las muestras de Oaxaca2004 y Oaxaca 2005 con la prueba de F_{ST} pareadas ($F_{st}= 0.0153$ $P= 0.00393$) y con la prueba exacta de homogeneidad genética ($X^2= 22.681$ $P= 0.0038$). Por otro lado no se encontraron diferencias significativas entre las muestras de Perú 2002 y Perú 2005 ($F_{ST}= -0.0019$ $P= 0.1502$; $X^2= 14.606$ $P= 0.0776$). Por esto para el análisis se unieron las localidades de Perú 2002 y 2005 en la población de Perú, no así las muestras provenientes de Oaxaca 2004 y 2005, que fueron consideradas como dos poblaciones distintas.

Una vez que se sumaron las dos muestras de Perú se realizó una nueva prueba de F_{ST} pareadas (Tabla 9), en la cual se observaron nuevamente las diferencias temporales entre las muestras de Oaxaca 2004 y 2005 ($F_{ST}= 0.0153$, $P= 0.00410$). Las muestras de Oaxaca 2005 y Perú también resultaron diferentes con un índice bajo de F_{ST} (0.0018) pero significativo ($P= 0.038$).

Tabla 9. Diferencias poblacionales pareadas. Valores de F_{ST} (arriba de la diagonal) y valores de probabilidad (debajo de la diagonal). Los valores significativos están resaltados con **negritas** ($P < 0.05$).

| | Oax04 | Oax05 | Perú | Eco04 | At90 |
|-------|----------------|----------------|---------|---------|---------|
| Oax04 | - | 0.0153 | 0.0088 | 0.0170 | 0.0070 |
| Oax05 | 0.00410 | - | 0.0018 | -0.0025 | -0.0034 |
| Perú | 0.34710 | 0.03800 | - | 0.0057 | -0.0031 |
| Eco04 | 0.13023 | 0.40750 | 0.35090 | - | -0.0054 |
| At90 | 0.46810 | 0.10990 | 0.81090 | 0.82720 | - |

La prueba exacta de diferenciación genética muestra un patrón similar al obtenido con la prueba de F_{ST} pareada (Tabla 10), pero a diferencia de ésta, mostró que las localidades de Oaxaca 2005/Atlántico 1990 son diferentes una de la otra ($X^2 = 16.383$ $P = 0.03721$).

Tabla 10. Prueba exacta de diferenciación de Fisher. Valores de X^2 (arriba de la diagonal) y valores de probabilidad (debajo de la diagonal). Los valores significativos están resaltados con **negritas** ($P < 0.05$).

| | Oax04 | Oax05 | Perú | Eco04 | At90 |
|-----------|----------------|----------------|---------|---------|--------|
| Oax04 | - | 22.747 | 12.578 | 13.745 | 8.940 |
| Oax05 | 0.00370 | - | 23.115 | 9.313 | 16.383 |
| Perú | 0.12720 | 0.00322 | - | 13.088 | 5.390 |
| Ecuador | 0.08866 | 0.31662 | 0.10886 | - | 7.024 |
| Atlántico | 0.34737 | 0.03721 | 0.71518 | 0.53410 | - |

Para evaluar el grado de estructura genética en diferentes niveles jerárquicos, dentro y entre poblaciones y grupos, se realizaron tres diferentes pruebas de AMOVA (Tabla 11). En la primera prueba se compararon los grupos del Norte, del Sur, del Ecuador y del Atlántico, los resultados indican que no hay diferencias significativas entre los grupos ($F_{CT} = -0.0029$) y la mayor parte de la variación proviene de la prueba entre poblaciones dentro de los grupos, sin embargo esta prueba no resultó significativa ($F_{CT} = 0.00104$, $P = 0.11935$). En la segunda prueba, en la que se compararon a los mismos grupos excluyendo la muestra proveniente del Atlántico, tampoco se pudo distinguir diferencias significativas entre los grupos ($F_{CT} = -0.003$) y nuevamente se obtuvo una señal que indica que la mayor parte de la variación proviene de la comparación entre poblaciones. En la última comparación (Norte v/s Sur) nuevamente no se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos ($F_{CT} = -0.00015$), sin embargo en esta prueba se detectó que las diferencias de las comparaciones entre poblaciones son significativas ($F_{ST} 0.0026$, $P = 0.024$). En todas las

pruebas la diferenciación entre poblaciones del mismo grupos (F_{SC}) resulto marginalmente significativa, lo cual posiblemente se deba a la diferenciación temporal encontrada entre las localidades de Oaxaca 2004 y 2005.

Tabla 11. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Se establecieron diferentes grupos de localidades: norte (Oaxaca 2004 y 2005), sur (Perú), Ecuador (Ecuador 2004), y Atlántico (Océano Atlántico 1990) y se compararon en diferentes combinaciones. Los valores significativos están resaltados con **negritas** ($P < 0.05$).

| Estructura | Sum. Cuadrados | % Variación | Índice de fijación | Probabilidad |
|--|----------------|-------------|---------------------|----------------|
| Cinco grupos Norte v/s Sur v/s Ecuador v/s Atlántico | | | | |
| Entre grupos (F_{CT}) | 1.536 | -0.29 | $F_{CT} = -0.00291$ | 0.60409 |
| Entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC}) | 0.692 | 0.39 | $F_{SC} = 0.00394$ | 0.05884 |
| Entre poblaciones (F_{ST}) | 321.363 | 99.90 | $F_{ST} = 0.00104$ | 0.11935 |
| Tres grupos Norte v/s Sur v/s Ecuador | | | | |
| Entre grupos (F_{CT}) | 1.016 | -0.30 | $F_{CT} = -0.00303$ | 0.50193 |
| Entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC}) | 0.692 | 0.40 | $F_{SC} = 0.00395$ | 0.05971 |
| Entre poblaciones (F_{ST}) | 295.863 | 99.91 | $F_{ST} = 0.001$ | 0.12175 |
| Dos grupos Norte v/s Sur | | | | |
| Entre grupos (F_{CT}) | 0.676 | -0.15 | $F_{CT} = -0.00154$ | 0.66647 |
| Entre poblaciones dentro de los grupos (F_{SC}) | 0.692 | 0.39 | $F_{SC} = 0.0038$ | 0.06231 |
| Entre poblaciones (F_{ST}) | 250.113 | 99.76 | $F_{ST} = 0.0023$ | 0.02406 |

Al probar la eficacia de F_{ST} v/s R_{ST} con el programa SpaGeDi 1.2 (Hardy y Vekemans, 2002) se aceptó la hipótesis nula de que las diferencias en el tamaño de los alelos no contribuyen a la diferencia poblacional observada. Se obtuvieron valores no significativos cuando se realizaron las pruebas de permutación del tamaño de los alelos para la estructura genética y la diferencia poblacional obteniendo valores de 0.1277 y 0.1169, respectivamente, lo cual es un indicio para considerar que las pruebas que trabajan sobre identidad alelica (F_{ST}) son las más indicadas para este conjunto de datos en particular.

Las distancias genéticas obtenidas a través del estimador D de Nei (1978) son en general bajas con un promedio de 0.004646 (Tabla 12), pero son consistentes con las reportadas con microsatélites para siete poblaciones de atún aleta amarilla en el Océano Pacífico occidental (Appleyard *et al.* 2001). Estas distancias fueron utilizadas para construir un dendrograma utilizando el método de *Neighbor-Joining*, el cual muestra un agrupamiento

de las localidades de Oaxaca 2005, Ecuador y Atlántico, mientras que las localidades de Perú y Oaxaca 2004 se encuentran aparentemente aisladas, mostrando un patrón claro de división entre las muestras de Oaxaca 2005 y Perú (Fig. 13). La muestra de Oaxaca 2004 aparece como una localidad aislada al resto de las localidades, posiblemente debido a su pequeño tamaño de muestra.

Tabla 12. Distancias genéticas de Nei (1978) debajo de la diagonal y distancias geográficas (Km.) arriba de la diagonal.

| | Oax04 | Oax05 | Perú | Eco04 | At90 |
|-------|---------|----------|----------|----------|------|
| Oax04 | - | 100 | 4053 | 3032 | 2878 |
| Oax05 | 0.01813 | - | 4153 | 3132 | 2778 |
| Perú | 0.01007 | 0.00112 | - | 5167 | 5637 |
| Eco04 | 0.02044 | -0.00230 | 0.00715 | - | 5825 |
| At90 | 0.00669 | -0.00425 | -0.00466 | -0.00593 | - |

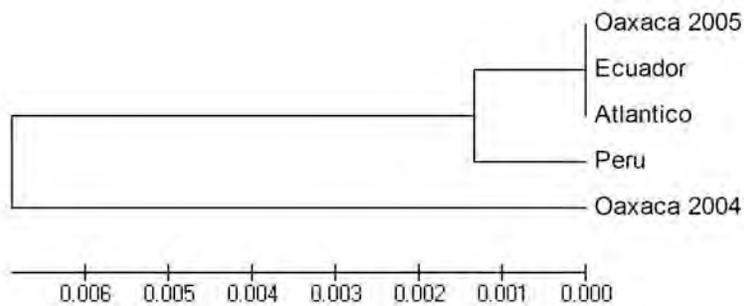


Figura 13. Dendrograma construido con distancias genéticas de Nei (1978) a través del método de *Neighbor-Joining*.

Los resultados obtenidos con el programa STRUCTURE mostraron ausencia de estructuración poblacional. En el análisis del modelo de mezcla no se observa señal de estructuración en la población, la prueba *ad hoc* obtenida directamente de STRUCTURE ($\ln P(D)$) arroja que el conjunto de datos conforma tan solo una población genéticamente homogénea (Fig. 14 a.1), obteniendo el valor máximo de probabilidad para $K=1$ ($\ln = -3046.1$) resultado que fue confirmado con la prueba de Evanno *et al.* (2005) (Fig. 14 a.2). Por su parte, el modelo de información poblacional, como era de esperarse, demostró que los individuos conforma seis poblaciones diferentes (Fig 14 b.1), sin embargo este análisis esta sesgado por la información poblacional introducida en los datos. Posteriormente, para

esta prueba, se confirmó la existencia de una sola población por medio del análisis *ad hoc* de ΔK (Fig 14 b.2).

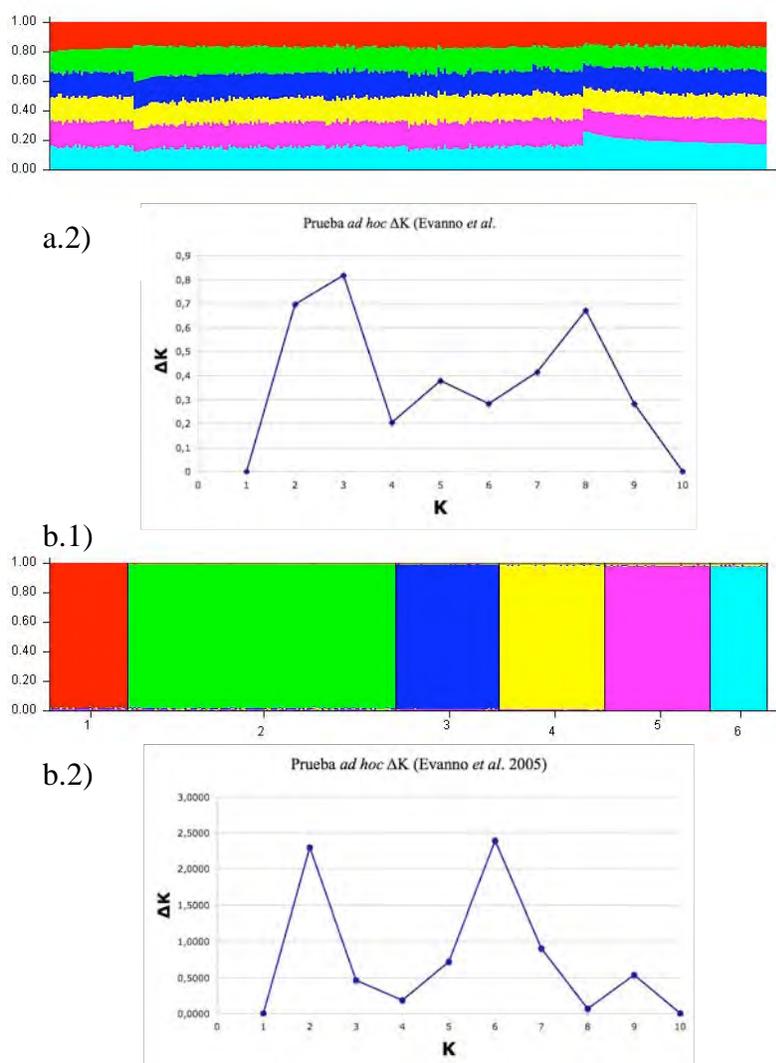


Figura 14. Pruebas Ln P(D) (Pritchard *et al.* 2000) y ΔK (Evanno *et al.* 2005) de estructuración poblacional. a.1) Modelo de mezcla Ln P(D), a.2) Modelo de mezcla ΔK , b.1) Modelo de información poblacional Ln P(D) y b.2) Modelo de información poblacional ΔK .

6.3 Tamaño efectivo poblacional y flujo génico.

El tamaño efectivo de las poblaciones (N_e) de atún aleta amarilla (Tabla 13) varía entre 479 (At90)-29,650 (Eco04). El tamaño efectivo poblacional más grande pertenece a Ecuador la cual es una zona intermedia en el Pacífico oriental y donde se encuentra la mayor abundancia de las poblaciones. Las poblaciones del norte presentan tamaños efectivos más

grandes en comparación de la muestra del sur, aunque es importante notar que los valores difieren por mucho entre uno y otro. El tamaño efectivo promedio para todas las poblaciones del Pacífico oriental ($N_e = 12,331$) concuerda con lo reportado por Gonzalez *et al.* (2008) para el atún patudo en el Océano Pacífico (*Thunnus obesus*, $N_e = 4,175$). Estas especies son comparables debido a que presentan una distribución idéntica, y a que los registros de captura para todo el Océano Pacífico muestran que el atún patudo registra una captura de tan solo $\frac{1}{4}$ parte en comparación a la del aleta amarilla (FAO, 2009), por lo que posiblemente el tamaño efectivo del aleta amarilla debe ser mayor.

La estimación del tamaño efectivo poblacional es una medida poco confiable debido a la incertidumbre de la tasa de mutación de los microsátélites, ya que se ha estimado que la tasa mutacional de los microsátélites varía entre 10^{-2} y 10^{-5} por locus por generación (Tautz, 1989; Weber y Wong, 1993). De modo que se debe tomar precauciones con estas estimaciones cuando se comparan entre poblaciones (Carlsson *et al.* 2004). Sin embargo, una alternativa es comparar directamente los valores del estimador theta, cuya prueba de ANOVA resultó significativa ($p = 0.00001$), lo cual representa que los valores de θ varían significativamente entre ellos. En la prueba de comparaciones múltiples de Tukey se pudo corroborar que la estimación de θ es significativamente diferente entre todas las localidades ($P < 0.01$), con excepción de Oaxaca 2004 con Perú y el Atlántico.

Tabla 13. Estimación de θ y del tamaño efectivo poblacional (N_e) del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental. Con una tasa de mutación de 10^{-4} (Whittaker *et al.* 2003). (IC) Intervalo de confianza.

| Población | θ | IC (95%) | N_e | IC (95%). |
|--|----------|-----------------|--------|--------------------|
| Oaxaca 2004 | 1.9938 | (1.9264-2.0644) | 4,985 | (4816-5161) |
| Oaxaca 2005 | 4.6521 | (4.0486-5.8316) | 11,630 | (10121.5-14579) |
| Perú 02/05 | 1.3315 | (1.1723-1.5208) | 3,329 | (2930.75-3802) |
| Ecuador 2004 | 11.86 | (8.3615-16.599) | 29,650 | (20903.75-41497.5) |
| Atlántico 1990 | 0.1917 | (0.1411-0.2698) | 479 | (352.75-674.5) |
| Promedio para todo el Océano Pacífico oriental | | | 12,331 | |

Como era de esperarse, la cantidad de flujo génico entre las poblaciones de aleta amarilla es alto para algunas localidades y en general muy variable, bajo el modelo de emigrantes por generación ($9.80 \cdot 10^{-13}$ -1760 emigrantes por generación) (Tabla 14). El

programa MIGRATE (Beerli, 2008) nos permite diferenciar el origen y el destino de los movimientos migratorios estimados, siendo los emigrantes los que salen de la población x y los inmigrantes los que llegan a la población y . Esta herramienta es muy útil en estudios con organismos marinos, ya que facilita la difícil labor que es observar estos movimientos de forma directa en las poblaciones naturales. La población que presenta un mayor número de emigrantes es Ecuador 2004 (Max: 1760) mientras que la población que contribuye en menor medida al resto de las poblaciones es la del Atlántico 1990 (Max: 2.93^{-4}). Lo anterior, es congruente con la posición geográfica de estas dos poblaciones, ya que mientras la localidad de Ecuador se encuentra en una zona intermedia presumiblemente de mezcla, la localidad del Atlántico esta completamente aislada del resto de las localidades.

Entre las localidades de Oaxaca 2004 y 2005, la cuales provienen de la misma zona geográfica el flujo es diferencial, ya que mientras Oaxaca 2004 contribuye con 7.403 individuos por generación a la población de Oaxaca 2005, el flujo en sentido opuesto es prácticamente nulo (1.69^{-4}). La población de Oaxaca 2004 aparece como una localidad parcialmente aislada ya que prácticamente no recibe inmigrantes provenientes de ninguna del resto las poblaciones y contribuye con pocos emigrantes tan solo a Oaxaca 2005 y Perú y en pequeñas cantidades (7.403 y 6.602, respectivamente). Por su parte, la población de Ecuador 2004 contribuye de forma diferencial con el resto de las poblaciones con un número pequeño de emigrantes hacia Oaxaca 2004 y Atlántico 1990, mientras que por otro lado con un gran número de emigrantes hacia Oaxaca 2005 y Perú (1630 y 1760, respectivamente) y de igual forma estas dos poblaciones son de las que aportan un mayor número de inmigrantes a la población de Ecuador (31.180 y 42.644, respectivamente). Lo cual demuestra el alto grado de conectividad que existe entre las localidades de atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental, a través del flujo que se produce en la población central de Ecuador.

Tabla 14. Estimación del número de migrantes entre las poblaciones.

| Población receptora de migrantes. | | | | | |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Origen de la migración. | Oax04 | Oax05 | Perú | Eco04 | At90 |
| Oax04 | - | 7.403 | 6.602 | 1.09^{-3} | 1.04^{-13} |
| Oax05 | 1.69^{-4} | - | 203.09 | 31.180 | 9.80^{-13} |
| Perú | 3.21^{-4} | 70.703 | - | 42.644 | 1.30^{-13} |
| Ec004 | 5.44^{-4} | 1630 | 1760 | - | 1.89^{-11} |
| Atl90 | 2.93^{-4} | 2.27^{-4} | 1.98^{-4} | 1.51^{-4} | - |

6.4 Estimación del poder estadístico

Las pruebas realizadas en POWSIM (Ryman y Palm 2006) mostraron que los datos presentan un buen poder estadístico. Cuando se contempla un tamaño efectivo poblacional pequeño de $N_e = 4,175$ (Gonzalez *et al.* 2008) y se realizan simulaciones del proceso de deriva génica a lo largo de 45 generaciones; los datos tienen $>84\%$ y con 25 generaciones $>54\%$ de eficacia para reconocer diferencias poblacionales, y una probabilidad baja (0.03/0.04) de que las estimaciones conduzcan al rechazo de la hipótesis nula cuando es verdadera (error tipo I) (Tabla 15).

Bajo el escenario de una población de tamaño efectivo mayor ($N_e = 12,331$) como el reportado en este estudio, el poder estadístico disminuye levemente. La prueba de X^2 posee un poder estadístico bajo, 37.8% , en la simulación con 25 generaciones, pero aumenta al 70.7% a 45 generaciones, por su parte la prueba de Fisher presenta valores similares de 33.1% ($t=25$) y 69.7% ($t=45$). Estos valores se encuentran en un rango aceptable considerando el tamaño de las poblaciones de atún aleta amarilla y el tiempo generacional (1-1.5 años), ya que tomando en cuenta un escenario de 45 generaciones se estima un poder de aproximadamente 70% . No obstante, estos resultados ponen en evidencia la necesidad de aumentar el número de individuos y loci empleados, para obtener una certeza mayor. A pesar de esto la probabilidad del error de tipo I sigue siendo baja (0.0494) siendo la probabilidad del error tipo I marginalmente significativas (Tabla 15).

Tabla 15. Estimación del poder estadístico (expresado en porcentaje) y de la probabilidad de rechazar la H_0 cuando es verdadera (expresada en probabilidad $P < 0.05$).

| Tamaño efectivo poblacional (N_e) | Generaciones (t) | Prueba de poder estadístico | | Prueba de error tipo I (t=0) | |
|---------------------------------------|------------------|-----------------------------|--------|------------------------------|--------|
| | | X^2 | Fisher | X^2 | Fisher |
| 1)4,175 | 25 | 54.7% | 52% | 0.0360 | 0.0450 |
| | 45 | 88% | 84.4% | | |
| 2)12,331 | 25 | 37.8% | 33.1% | 0.0494 | 0.0494 |
| | 45 | 70.7% | 69.7% | | |

VII. Discusión

La mayoría de los índices demográficos en las principales pesquerías han mostrado una tendencia negativa en las últimas décadas a causa de la sobreexplotación, el descenso en el reclutamiento de las principales poblaciones que sostienen a la pesca comercial, puede conducir en pocos años a la “extinción comercial” o incluso a la extinción total de alguna población o especie en particular (Grant y Bowen, 1998). En años recientes pese al incremento en los esfuerzos de conservación y al cambio en el paradigma de que los recursos marinos no son ilimitados, de igual forma se ha producido una aceleración en las tecnologías pesqueras acrecentado la presión en los recursos, y en caso de que las tendencias actuales continúen es posible que se produzca un agotamiento en los recursos (Pauly *et al.* 2005). La correcta conservación y manejo de los recursos pesqueros requieren de un amplio entendimiento de la estructura poblacional de la especie en estudio, la cual debe ser aplicada para incrementar la eficiencia de los modelos de manejo existentes (Graves, 1998). El análisis de las pesquerías con marcadores moleculares dirigen sus esfuerzos a determinar la situación actual (y en ocasiones histórica) de los *stocks* pesqueros, y la forma más común para lograrlo es probar la hipótesis nula de que la población en estudio está compuesta por una unidad homogénea (panmíctica) de individuos que se comunican a través de un flujo génico constante (Ward, 2000).

El asumir la existencia de un solo *stock* cuando la pesquería se compone de más de un *stock* puede conducir a la sobreexplotación de la unidad genética y consecuentemente a la pérdida de la variación genética (Graves, 1998). Por lo que este estudio persigue contribuir a la correcta asignación del (os) *stock* (s) del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental.

7.1 Diversidad genética poblacional

Se lograron amplificar cuatro loci en 340 individuos de atún aleta amarilla con un alto porcentaje de eficacia, en donde tan sólo 2.7% de los individuos fueron eliminados de los análisis a causa de un patrón de bandas confuso o bien a una total falla en la amplificación. Los cuatro loci resultaron altamente polimórficos (100%) y mostraron un claro patrón de bandas fácilmente identificable. Estas condiciones se dieron gracias a la utilización de

microsatélites tetranucleótidos, los cuales presentan una menor incidencia de alelos inestables (Waples, 1998) y una lectura (obtención de genotipos) más sencilla con una menor incidencia de errores, debido a que la separación entre los alelos es mayor en comparación a los di- y trinucleótidos.

El promedio de alelos registrados (6.6) es congruente con estudios previos que ocuparon los mismos microsatélites en estudios de genética de poblaciones en el atún aleta amarilla (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006) y en el atún aleta azul del Atlántico (Carlsson *et al.* 2004). No obstante, el valor promedio de alelos resulta bajo cuando lo comparamos con el obtenido (17) por Appleyard *et al.* (2001) en donde utilizaron microsatélites específicos para aleta amarilla, en el Pacífico occidental. A pesar de ser posible de que esto se deba al empleo de microsatélites específicos, se ha observado que en los atunes las relaciones filogenéticas son muy estrechas (Elliot y Ward, 1995) y los microsatélites diseñados para una especie resultan igual de eficientes para algunas otras (MacDowell *et al.* 2002). Por lo que es más posible que estas diferencias se puedan adjudicar a que Appleyard *et al.* (2001) utilizaron un número de muestra mucho mayor (N= 1377) que el empleado en este estudio. De la misma forma Appleyard *et al.* (2001) emplearon microsatélites de tipo dinucleótidos, los cuales son más polimórficos (Jarne y Lagoda, 1996) por lo que es de esperarse que presenten un mayor número de alelos. Las diferencias en los patrones de mutación entre los microsatélites dinucleótidos y tetranucleótidos indican que estos últimos son más estables, ya que mutan a una tasa menor que los dinucleótidos (Chakraborty *et al.* 1997) y por lo tanto proveen una estimación más confiable.

Aunque los valores de diversidad genética intra-poblacional en general son similares existen algunos aspectos importantes a destacar. La población que registra el promedio más alto de número de alelos y riqueza alélica es Perú, lo cual es consistente al patrón de diferenciación observado. De forma opuesta la población con los niveles más bajos de riqueza y número de alelos es Ecuador (Fig. 15). Se encontró una baja presencia de alelos exclusivos, y sólo las localidades de Perú y Oaxaca 2005 los presentan, con lo que se explica el patrón de diferenciación observado para estas dos poblaciones, ya que la aparición de alelos exclusivos indica que la deriva génica actúa fijando a los alelos. Las localidades de Oaxaca 2004 y Ecuador no presentaron alelos privados (Fig. 15). Por su

parte, en Oaxaca 2004 puede deberse a que esta medida es sensible al tamaño de muestra, siendo ésta muestra menor a las demás. Mientras que en el caso de Ecuador, se presume que debido a que se encuentra en una zona de mezcla y alta abundancia del recurso, las posibilidades de muestrear este tipo de alelos de baja frecuencia disminuye, al tiempo que requieren de tamaños de muestra mayores para su obtención.

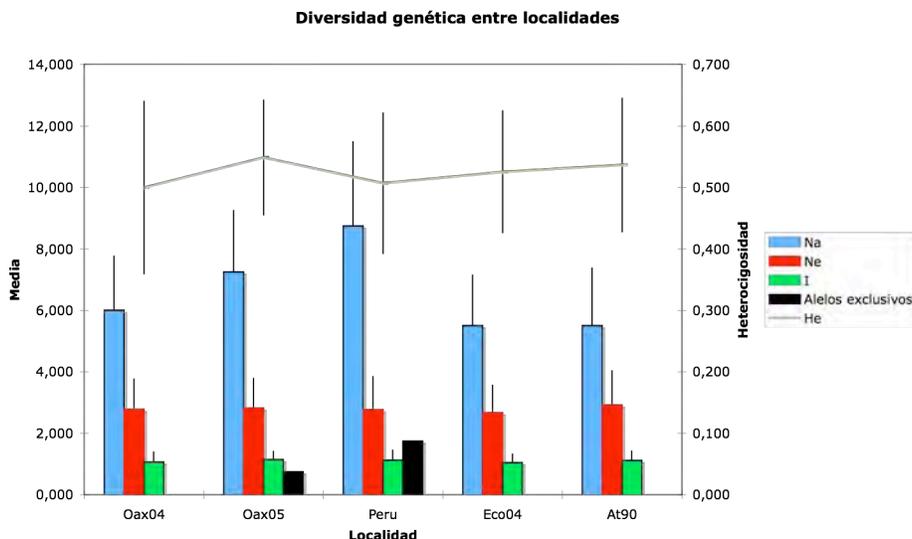


Figura 15. Gráfica de los patrones alélicos y la Heterocigosidad media para cada una de las localidades.

Las localidades analizadas por lo general se encuentran en equilibrio de H-W, con excepción de tres pruebas que mostraron probabilidades significativas de desviación del equilibrio. La población de Oaxaca 2004 presenta pruebas significativas en dos locus, Tth10 y Tth34, y en las dos ocasiones las desviaciones se deben a un exceso de heterócigos, evidenciado por valores negativos en el índice de fijación. Este fenómeno es poco común en estudios anteriores con microsatélites en el atún aleta amarilla, donde comúnmente las desviaciones del equilibrio de H-W se deben a deficiencias en el número de heterócigos (Appleyard *et al.* 2001; Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer; 2006; Dammannagoda *et al.* 2008). El índice de fijación negativo demuestra que la población de Oaxaca 2004 presenta efectos opuestos a los de la endogamia, tales como expansión poblacional o contribuciones externas a su variabilidad genética. Lo cual puede ser resultado de que estos individuos fueron capturados en una zona de pesca alejada de la costa, a diferencia de Oaxaca 2005, en

una región que se compone de individuos provenientes de diferentes cardúmenes, lo que será discutido ampliamente más adelante. Por su parte la localidad de Perú se desvía significativamente del equilibrio de H-W en el locus Tth34, debido a un déficit de heterocigos (índice de fijación positivo). Comúnmente este tipo de desajuste respecto del modelo de H-W se explica a través de la aparición de eventos endogámicos, sin embargo, en una población tan abundante, como lo es la del atún aleta amarilla, este fenómeno es poco probable, siendo más factible que este proceso se deba al resultado de un muestreo no aleatorio en donde se capturan peces más longévos y grandes, o bien al efecto de la selección natural, donde se ven favorecidos los homocigotos.

La heterocigosidad varía considerablemente entre los loci de 0.365 a 0.837. El valor promedio de 0.528 es relativamente bajo en comparación a otros estudios (Appleyard *et al.* 2001; Dammannagoda *et al.* 2008), ya que en ellos se reportó un mayor número de alelos, por lo que era de esperarse que la heterocigosis fuera mayor para los microsatélites empleados por estos autores. Sin embargo, es congruente con trabajos que emplearon previamente estos mismos microsatélites (Carlsson *et al.* 2004; Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006). La localidad de Perú, a pesar de haber registrado la mayor riqueza alélica, presenta el valor más bajo de heterocigosidad promedio, prueba de que posee una variabilidad genética baja. Esto posiblemente sea ocasionado por efecto de la deriva génica que tiende a fijar más rápidamente a los alelos, de forma que la población de Perú posee diversidad alélica pero en su mayoría en forma de homocigotos.

7.2 Análisis inter-poblacional

Los métodos con los cuales se ha intentado analizar la estructura de los *stocks* del atún aleta amarilla son muy variados y las evidencias que han presentado son contradictorias.

Las pruebas de diferenciación genética (F_{ST} y Fisher) en el presente estudio muestran que existe diferenciación poblacional tanto temporal como espacial. La señal de divergencia temporal detectada entre las muestras de Oaxaca 2004 y 2005, no era de esperarse aunque, puede ser explicada de diferentes formas, que más adelante abordaremos. Por otro lado también se observa evidencia de diferenciación espacial entre Perú y Oaxaca 2005, lo cual es consistente con la hipótesis alternativa de divergencia poblacional entre la

porción norte y sur del Océano Pacífico oriental. Cualquier tipo de señal de diferenciación espacial en especies pelágicas con potencial altamente migratorio y tamaños poblacionales muy grandes son de gran relevancia y no pueden ser soslayados pues este estudio es el segundo en el que dichas diferencias son detectadas. Este fenómeno de diferenciación puede ser explicado con evidencias ecológicas (Hunter *et al.* 1986; Flink y Bayliff, 1970; Ortega, 1998; Schaefer, 1998; Schaefer *et al.* 2007), oceanográficas (Feidler, 1992; Tomczak y Godfrey, 1994) y genéticas (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006; Dammannagoda *et al.* 2008), que serán abordadas igualmente más adelante.

De forma contraria, los resultados de estructuración poblacional a través del empleo de estadística bayesiana arrojan evidencia de que la distribución del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental se compone de una sola población genéticamente homogénea. Este tipo de inferencias ya han sido previamente utilizadas en especies de peces pelágicos con bajos niveles de diferenciación; como es el caso de la sardina europea (Gonzalez y Zardoya, 2007) y el atún patúdo (Gonzalez *et al.* 2008), obteniendo resultados congruentes con el resto de los estimadores al emplear un número alto de individuos y loci en los estudios. Sin embargo, tanto los autores del programa (Pritchard *et al.* 2000) como el equipo que se encargó de evaluar su desempeño (Evanno *et al.* 2005) sugieren que la eficacia y sensibilidad del programa disminuyen conforme el número de loci e individuos empleados disminuyen. Asimismo, es importante notar que el programa fue probado con datos de niveles de diferenciación medios a altos ($F_{ST} = 0.16-0.43$) (Evanno *et al.* 2005), ya que, a pesar de que STRUCTURE presenta un buen desempeño con niveles de diferenciación bajos, se ha indicado que a niveles $\leq F_{ST} = 0.02$ el programa comienza a reducir su eficacia (Latch *et al.* 2006) y se corre el riesgo de obtener estimaciones erróneas.

A pesar de esto, es importante no restarle importancia a estos resultados ya que en caso de estar en lo correcto indicarían que la población de atún aleta amarilla en esta región del Océano Pacífico conforma una unidad panmíctica y en consecuencia debe ser considerada como un solo *stock* pesquero.

7.3 Aplicación del estadístico F

Distinguir qué tipo de estimador es más adecuado cuando se trabaja con microsatélites es de gran importancia para obtener conclusiones confiables sobre la estructura genética de las poblaciones. Las estimaciones basadas en diferencias de identidad alélica (F_{ST}) y en diferencias en el tamaño de los alelos (R_{ST}), a pesar de ser análogos, se basan en diferentes supuestos sobre los modelos de mutación que siguen los microsatélites. Algunos autores indican que el estimador F_{ST} es el más indicado para analizar datos de microsatélites ya que el estadístico R_{ST} por lo general presenta un alto grado de sensibilidad con respecto a las diferencias de tamaño de muestra, en comparación a los estimadores que trabajan sobre identidad alélica como la F_{ST} (Goldstein *et al.* 1995), además de que se ha estimado que la F_{ST} presenta un menor índice de error estándar (Gaggiotti *et al.* 1999; Hardy *et al.* 2003). Cuando se trabaja con poblaciones que no son altamente divergentes y presentan un alto grado de flujo génico, el estadístico F_{ST} debe ser preferido sobre el R_{ST} el cual es más adecuado para poblaciones muy divergentes y con poco flujo génico (Balloux y Lugon-Moulin, 2002).

Para resolver esta cuestión utilizamos la prueba diseñada por Hardy *et al.* (2003), con la cual obtuvimos valores no significativos cuando se probó la eficacia del tamaño de los alelos para proveer de resultados confiables en ensayos de estructura y diferenciación genética. De modo que, siguiendo estos resultados, se decidió utilizar la F_{ST} para realizar la estimación de la estructura poblacional.

7.4 Diferenciación temporal

Se obtuvieron valores de diferenciación significativos entre las muestras temporales de Oaxaca 2004 y Oaxaca 2005 y por esto no pudieron ser mezcladas para componer una sola población durante el análisis, restándole poder de resolución al AMOVA. Este fenómeno es extraño y difícil de explicar ya que se puede dar por varias causas que se enumeran a continuación. Sin embargo, es importante antes mencionar que no se puede saber con certeza la condición migratoria de los individuos capturados, por lo que existe la posibilidad que los patrones de diferenciación “extraños” se deban a que para ese muestreo en particular los individuos provinieron de otro sitio. En el caso de los muestreos en la dos

localidades de Oaxaca, se debe de tomar en consideración que las capturas generalmente se realizan en embarcaciones de pesca ribereña cuyo tamaño es de entre 7.5-10 metros de eslora que realizan viajes cortos de entre 10 y 50 Km. (Ladrón de Guevara *et al.* 2004).

La primera opción para explicar las diferencias temporales es que posiblemente las muestras de Oaxaca 2004 fueron capturadas en zonas más alejadas de la costa, a través de recorridos más largos de las embarcaciones, a causa de aumentos en la temperatura superficial del agua y del descenso en la profundidad de la termoclina, lo cual posiblemente provocó una inusual ausencia del recurso en la porción costera. El aumento en la temperatura superficial del agua, principalmente por efecto del fenómeno de El Niño, ocasiona el descenso en la biomasa (Suárez-Sánchez *et al.* 2004) de los atunes, y como consecuencia una disminución en la CPUE y el índice disponibilidad-vulnerabilidad (Joseph y Miller, 1988). El fenómeno de El Niño provoca que la temperatura del mar se eleve en el ecuador y las zonas costeras y propicia el descenso en profundidad de la termoclina (Miller y Laurs, 1975), estas condiciones ocasionan que los atunes desciendan a profundidades mayores o bien que presenten movimientos horizontales en busca de aguas menos cálidas donde la termoclina sea menos profunda. En cualquiera de los dos casos la disponibilidad del recurso cerca de la costa se ve afectada, por lo que usualmente los pescadores tienen que viajar mar adentro en busca de los cardúmenes. En el 2004, durante la segunda mitad del año, se registró un evento ligero del Niño en aguas ecuatoriales (Fig. 16), lo cual pudo ocasionar que durante ese periodo los cardúmenes de aleta amarilla hayan sido capturados en zonas de pesca más alejadas de la costa, o bien que los cardúmenes capturados hayan provenido de la porción sur del Pacífico oriental. Este pequeño lapso del Niño continuó hasta febrero del 2005 lo cual pudo permitir que, con el descenso en la temperatura superficial del agua, los cardúmenes pudieran regresar a las zonas de las cuales provenían. Las dos muestras fueron tomadas a mediados de mayo, meses en los cuales existieron condiciones diferentes en cada uno de los años, por lo que posiblemente las muestras de Oaxaca 2004 provengan de zonas de mar abierto, o bien de zonas cercanas al hemisferio sur, debido a la importante contribución de aguas sudamericanas durante los eventos del Niño (Miller y Laurs, 1975). Mientras que, la muestra de Oaxaca 2005 es más probable que provenga de zonas cercanas a la costa, de la porción norte del Océano Pacífico oriental.

Estas dos posibilidades explicarían el patrón de diferenciación temporal encontrado, ya que se han reportado diferencias significativas entre muestras costeras y de mar abierto en el atún aleta amarilla en el hemisferio norte del Pacífico oriental (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2003). En el caso de que la muestras provengan del hemisferio sur, la señal de diferenciación encontrada se adjudica al patrón de divergencia espacial reportado en este estudio y en Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006).

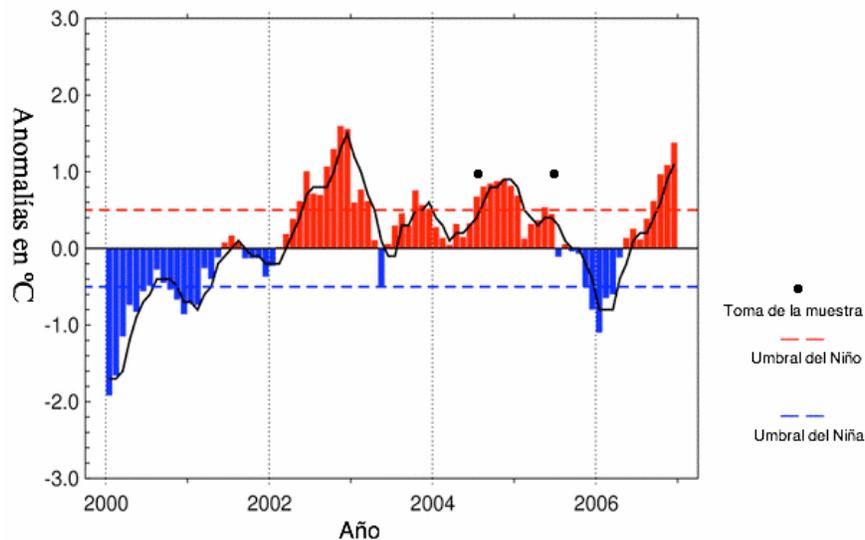


Figura 16. Eventos de El Niño en el Océano Pacífico oriental entre los años 2000-2007. La muestra de Oaxaca 2004 fue tomada durante un evento ligero del Niño, mientras que la muestra de Oaxaca 2005 fue tomada durante condiciones normales. Imagen obtenida de NOAA/NCDC, 2007.

El segundo escenario que podría explicar las diferencias temporales reportadas es que posiblemente la muestra de Oaxaca 2004 esté compuesta por individuos provenientes de cardúmenes con diferentes composiciones genóticas, originadas por diferencias dadas por vía sexuales o bien por diferencias de edades. Esta particularidad podría ocasionar un proceso aleatorio en donde algunos genotipos se vean favorecidos sobre otros, ocasionando un fenómeno parecido al efecto Wahlund, lo que explicaría el déficit de homocigosis encontrado en dos de los cuatro loci para esta población. Este fenómeno ha sido reportado previamente en la porción norteña de la distribución del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental por Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2003), por lo que es congruente pensar que en la localidad de Oaxaca 2004 pudiera estar ocurriendo.

Una tercera opción es el efecto del error de tipo intra-locus, el cual está determinado por la cantidad de individuos que componen a una muestra. El índice de diferenciación F_{ST} es sensible al tamaño de muestra y la señal de diferenciación se ve seriamente afectada con un número de muestra pequeño la cual introduce ruido (señal de error) en el análisis, se ha estimado que en especies marinas el valor de F_{ST} se compone de una cantidad proporcional de ruido y de señal de diferenciación con número de muestra pequeño ($N=25$) y que la contribución del ruido decrece exponencialmente conforme se aumenta el tamaño de la muestra (Waples, 1998). El tamaño de muestra de Oaxaca 2004 es considerablemente menor al de Oaxaca 2005 (37 y 127, respectivamente), lo cual puede ocasionar una señal errónea de diferenciación. La muestra de Oaxaca 2004 muestra un promedio menor de alelos y de alelos efectivos en comparación a la muestra de Oaxaca 2005, y de igual forma la localidad de Oaxaca 2004 no presenta ningún alelo privado. Todo esto, podría indicar que, a causa de que el tamaño de la muestra de Oaxaca 2004, no se alcanzaron a muestrear todos los alelos en la población. El número de alelos y de alelos efectivos es sensible al tamaño de la muestra (Kalinowski, 2004), por lo que se realizó una prueba de correlación para probar el efecto del tamaño de muestra de las localidades contra el número de alelos y de alelos efectivos encontrados. La prueba realizada con el número de alelos a pesar de no haber resultado significativa, tiene un índice de correlación muy alto ($r= 0.7725$, $p= 0.2275$) lo cual es un indicio de que el tamaño de muestra ejerce un efecto importante en la cantidad de alelos encontrados en cada población. Por su parte, la prueba realizada con el número de alelos efectivos posee un índice de correlación bajo y no significativo ($r= 0.0754$ $p= 0.9245$), debido a que esta medida es menos sensible al tamaño de muestra (Frankham *et al.* 2002).

Es por esto que no se puede ser concluyente acerca del patrón de diferenciación genética temporal encontrado en este estudio, de modo que es necesario contar con una muestra más grande que permita recuperar la señal de diferenciación con mayor precisión (Waples, 1998).

7.5 Diferenciación espacial

La señal de diferenciación en especies marinas, y en especial en peces pelágicos es comúnmente baja (Waples, 1998; Graves, 1998; Ward, 2000). En el caso particular de los atunes, que son peces con tamaños poblacionales muy grandes y altas capacidades migratorias, la diferenciación reportada es aun menor (Appleyard *et al.* 2001; Carlsson *et al.* 2004; Ely *et al.* 2005; Dammannagoda *et al.* 2008; Gonzalez *et al.* 2008), y se ha argumentado que debido a las características de estos pelágicos esta señal no debe ser menospreciada. En este estudio se encontró un índice de diferenciación total muy bajo, pero significativo ($F_{ST}= 0.0038$), en donde la diferenciación provino de dos (*Tth10* y *Tth21*) de los cuatro loci analizados.

Los patrones de diferenciación encontrados a través de la prueba de F_{ST} pareadas y la prueba exacta de diferenciación revelan que las localidades de Perú y Oaxaca 2005 son diferentes con una probabilidad de 0.038 y 0.0032, respectivamente. Lo cual muestra indicios importantes de diferenciación espacial entre las poblaciones al norte y sur del Ecuador. Es importante notar que la probabilidad de la prueba de F_{ST} es baja y no es significativa después de aplicar la corrección secuencial de Bonferroni ($0.05/10=0.005$) (Rice, 1988).

Sin embargo, recientemente se ha argumentado que la aplicación de la corrección secuencial de Bonferroni puede conducir a conclusiones erróneas en estudios ecológicos (Moran, 2003) y etológicos (Nakagawa, 2004). Los autores argumentan que al aplicar la corrección secuencial de Bonferroni se corre el riesgo de caer en el error de tipo II (aceptar la H_0 cuando es falsa), al mismo tiempo de que es un poco contradictorio que conforme el análisis contenga más comparaciones, incrementando su poder estadístico, la probabilidad de encontrar pruebas significativas disminuya. Nakagawa (2004) cuestiona acerca de si es mejor reportar resultados significativos (tras la corrección) con pocas comparaciones o bien reportar resultados no significativos con muchas comparaciones. El atún aleta amarilla por ser una especie que cuenta con poblaciones muy grandes, un N_e muy grande, condiciones para realizar movimientos migratorio extensos y un potencial reproductivo muy amplio, exhibe niveles de diferenciación genética muy reducidos, por lo que es importante tomar una posición precautoria cuando se intenta establecer su estructura genética. Es por esto, que decidimos optar por no realizar las correcciones secuenciales de Bonferroni al

momento de interpretar los resultados obtenidos, y de esta forma recuperar al máximo la señal de divergencia genética.

Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006) reportaron evidencias preliminares de diferenciación entre tres muestras al norte del Ecuador y una muestra al sur, empleando 7 loci de microsatélites. Sin embargo no descartaron que este patrón de diferenciación pudiera deberse a efectos temporales y de muestreo no aleatorio. Los errores en la interpretación de los resultados a causa del efecto de muestreos no aleatorios son muy comunes en el estudio genético de las pesquerías (Waples, 1998), y se deben principalmente a que los muestreos de las especies marinas, y en particular de los peces pelágicos, por lo regular dependen de la extracción pesquera comercial o deportiva, las cuales presentan sesgos a tamaños mínimos en la captura de los individuos, principalmente impuestos por limitaciones administrativas. De igual forma dentro de las pesquerías existen peces que a causa de sus características son más o menos vulnerables a la pesca, características que en algunos casos son heredables (Hutchings y Reynolds, 2004). Por otro lado, las características migratorias y los movimientos estacionales que presentan los *stocks* de los atunes también pueden ocasionar patrones de diferenciación entre los muestreos (P. Díaz-Jaimes, comm. pers.).

En el presente estudio no se encontraron diferencias temporales entre dos muestras de igual tamaño en la porción sur de Pacífico oriental. Las muestras de Perú 2002 y 2005 constituyen una entidad genéticamente homogénea, la cual a su vez se diferencia espacialmente de la muestra norteña de Oaxaca 2005 (también de similar tamaño). Esto corrobora las recomendaciones hechas por Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006) de incluir una replica temporal ubicada al sur del Ecuador y confirma que las diferencias reportadas en ese estudio muy posiblemente no se deben a efectos temporales.

Las características ambientales que definen la dinámica biológica y demográfica dentro de un *stock* comúnmente no se distribuyen de forma uniforme, lo cual puede propiciar que en muchos de los *stocks* sujetos a explotación comercial no representan una sola unidad reproductiva (Marteinsdóttir y Pardoe, 2008).

El proceso de divergencia entre las localidades de Perú y Oaxaca 2005 puede deberse a la existencia de zonas de desove al sur y norte del Ecuador y al desfase de su ocurrencia en ambos hemisferios (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006). Schaefer (1998)

describió que el desove ocurre en el verano septentrional y meridional con una diferencia de seis meses en ambos extremos de la distribución del atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental. Los datos obtenidos por el autor muestran que el desove en el Pacífico oriental es general desde los 26°N-14°S y de la costa hasta al menos 140°O, pero que existen diferencias espacio-temporales significativas; entre los 0°-20°N el desove ocurre en todo el año, mientras que al norte de los 20°N el desove ocurre principalmente desde julio hasta diciembre y con menor proporción de marzo a junio y finalmente al sur de los 0° los picos se registran durante enero y febrero y algunas hembras reproductivas de noviembre a diciembre (Fig. 17). El desove en zonas extremas de distribución de la especie, no obstante que la isoterma de los 26°C ha sido identificada como una limitante en las temporadas reproductivas (Ueyanagi *et al.* 1969), ha sido adjudicado a la presencia de importantes zonas de productividad primaria que servirían como zonas de crianza de larvas y juveniles (*nursery areas*). Así mismo se ha registrado que las temperaturas mínimas a las cuales se han capturado larvas del género *Thunnus* son los 24°C (Boehlert y Mundy, 1994). Comúnmente es durante el verano cuando se presentan las condiciones propicias para el desove y su estacionalidad es diferente al norte (septentrional) y al sur (meridional) del Ecuador.

Este fenómeno del desfase en el desove puede propiciar diferencias poblacionales ya que tanto los huevos como las larvas resultantes de estos eventos reproductivos se llevan a cabo zonas geográficas muy distantes y las corrientes que se forman en el Océano Pacífico oriental (Fiedler, 1992), particularmente las corrientes ecuatoriales del norte y sur y la contracorriente del Ecuador, representan barreras oceanográficas que restringen la dispersión de las larvas y huevos en una escala latitudinal. Así mismo la variación en el éxito reproductivo es un fenómeno aditivo que puede promover un efecto de divergencia genética. Las larvas del atún aleta amarilla al ser pelágicas, se encuentran sujetas a condiciones que pueden modificar su sobrevivencia tales como; variaciones climáticas, poca disponibilidad de alimento y/o que las corrientes marinas las alejen de las zonas de crianza (Hedgecock, 1994). Una disminución en el éxito reproductivo conduciría a una disminución considerable en el reclutamiento y en consecuencia a un proceso de aislamiento genético reduciendo la conectividad entre las poblaciones.

Los patrones y hábitos migratorios que presenta el atún aleta amarilla es otro componente que puede propiciar la aparición de unidades semi-independientes en el Pacífico oriental. Procesos tales como la disponibilidad de alimento (Shimada y Schaefer, 1956; Blackburn 1964; Díaz 1992; Ortega, 1998), la ocurrencia de las surgencias (Feidler, 1992; Tomczak y Godfrey, 1994), la afinidad a sitios de alimentación (Schaefer *et al.* 2007) y las migraciones latitudinales restringidas (Hunter *et al.* 1986; Flink y Bayliff, 1970; Schaefer *et al.* 2007) pueden propiciar que la mezcla entre las poblaciones sureñas y norteñas sea limitada.

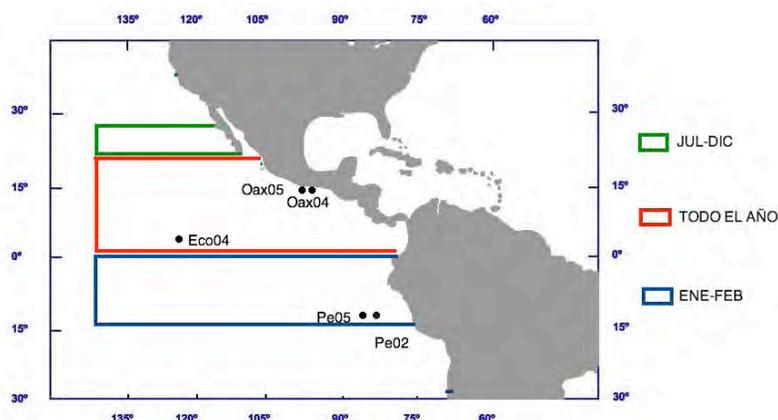


Figura 17. Temporalidad del desove del atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental. Se muestran los sitios de muestreo de este estudio (•).

La diferenciación encontrada entre Perú y Oaxaca 2005, a pesar de ser muy baja y marginalmente significativa, no debe ser despreciada, ya que es una evidencia muy importante en favor de la posibilidad de que la población de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental no sea una unidad panmíctica como actualmente se cree. Sin embargo no se descarta que el patrón de diferenciación encontrado sea producto de un muestreo no aleatorio (Waples, 1998) y/o la incidencia de divergencia poblacional temporal (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006).

7.6 Tamaño efectivo poblacional y flujo génico

En una población finita que se encuentra sujeta a fuerzas evolutivas tales como mutación, selección y migración, sus propiedades genéticas (heterocigosis, número de alelos,

frecuencias alélicas y genotípicas, entre otras) cambian de generación en generación, como resultado del proceso estocástico de combinaciones de un número finito de gametos durante la reproducción (Wang, 2005). Este proceso depende tanto en fuerza como en magnitud del tamaño efectivo poblacional, N_e , (Crow y Kimura, 1970), siendo más lento en poblaciones con números efectivos grandes (Wang, 2005).

Los N_e varían entre una población y otra; las poblaciones del norte (Oaxaca 2004 y Oaxaca 2005) registran valores más grandes en comparación a la población del sur, aunque entre ellas también existe un alto grado de variación, evidenciando una vez más los patrones de divergencia inesperados que se encontraron entre las poblaciones de Oaxaca 2004 y Oaxaca 2005. Entre las muestras que exhibieron diferencias genéticas significativas espaciales (Oaxaca 2005 y Perú) los valores de N_e difieren en gran medida. La población al sur del Ecuador posee un tamaño efectivo muy bajo en comparación a las poblaciones del norte, lo que puede ser considerado como evidencia preliminar de que la población de Perú se encuentra sujeta en mayor grado, a los efectos de la deriva génica, lo cual aunado a las estimaciones de flujo génico significativo, nos permite concluir que se encuentra parcialmente aislada. De igual forma la población de Perú ostenta el valor más bajo de heterocigosis, evidencia de que posiblemente el número de individuos exitosamente reproductivos sea bajo, propiciando el aumento en la cantidad de individuos homocigotos. La población de Ecuador presentó el nivel más alto de N_e conforme a lo esperado, ya que al parecer esta zona es un lugar de mezcla entre las poblaciones, como lo sustentan datos de marcaje (Fink y Bayliff, 1970) y datos genéticos (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2006), además de ser una zona que posee características oceanográficas excepcionales para que el desove ocurra a lo largo de todo el año (Schaefer, 1998), el cual debe ser sustentado por un mayor número de individuos reproductivos que permitan mantener la temporada reproductiva permanentemente, ocasionando una mayor segregación de los gametos. De forma contraria, el desove en las poblaciones al sur y al norte del Ecuador ocurre solo cuando las condiciones ambientales son las indicadas, de forma que esto produce las diferencias entre los tamaños efectivos poblaciones para las diferentes localidades.

El número efectivo poblacional más bajo fue el de la localidad del Atlántico (479) el cual difiere por mucho del reportado por Gonzalez *et al.* (2008) para el atún patudo en el

Océano Atlántico (15,175). Esta diferencia posiblemente se deba al tamaño de muestra pequeño de la localidad del Atlántico (N=27).

En el presente estudio se encontró un tamaño efectivo poblacional de 12,331 individuos para todo el Pacífico oriental, el cual es más o menos consistente con el reportado en el atún patudo en todo el Océano Pacífico (Gonzalez *et al* 2008) y para el atún aleta azul del Atlántico en el Mar Mediterráneo (Carlsson *et al.* 2004^{*}). Para el atún patudo los autores reportaron un valor promedio de $N_e= 4,175$ y para el atún aleta azul del Atlántico un valor de $\theta= 0.993$ ($N_e= 2,483$), aunque es importante notar que el atún aleta amarilla presenta valores de abundancia y captura mayores a los de estas dos especies. La captura del atún patudo es del 81.5% en comparación a la del aleta amarilla, diferencia que no es tan grande tomando en cuenta los grandes volúmenes de extracción, sin embargo el atún aleta azul del Mediterráneo registra valores de captura muy por debajo del atún aleta amarilla que en comparación son de tan sólo 10.6% (Tabla 16). De modo que bajo este supuesto el valor reportado de N_e para el atún aleta amarilla del Pacífico oriental resulta bajo.

En otro estudio, en donde se utilizó la región control (DNAMt), se reportó que a nivel global el número efectivo de hembras de aleta amarilla que pasan sus genes a la siguiente generación (N_{e-f}) es de 10 millones, y que la población pasó por un evento de expansión poblacional relativamente reciente ($N_{e0}= 823$, hace 522,000 años) y adjudican la falta de diferenciación poblacional encontrada a las grandes cantidades de hembras que conforman el N_{e-f} (Ely *et al.* 2005). Es importante notar que la estimación del N_e efectivo empleando métodos moleculares de DNAMt es más efectiva que si se utiliza DNAn, ya que si se trabaja una región de DNAMt bien caracterizada la estimación puede ser más confiable, debido a que se cuenta con una mayor certeza acerca de su tasa de mutación, en cambio, los marcadores de DNAn sufren de incertidumbre ya que su tasa de mutación es muy variable (Wang, 2005).

* Los autores reportaron sólo los valores obtenidos de θ , la conversión de $N_e= \theta/4\mu$ fue estimada ($\mu=10^{-4}$).

Tabla 16. Comparación de la captura entre tres especies de atunes. La captura esta expresada en toneladas. Datos obtenidos de la FAO (2009).

| Especie (<i>Stock</i>) | Promedio de captura (200-2007) | Porcentaje | Composición de captura comparada |
|--------------------------------------|-----------------------------------|------------|-------------------------------------|
| Aleta azul del Atlántico | 0.3×10^5 | 5.5% | 10.6% |
| Patudo del Pacífico | 2.5×10^5 | 42.4 % | 81.5% |
| Aleta amarilla del Pacífico oriental | 3.1×10^5 | 52.1 % | 100% |
| Total | 5.9×10^5 | 100% | |

En las poblaciones marinas que sustentan grandes pesquerías es común que se suponga que poseen tamaños efectivos poblacionales muy grandes, y por ende que son prácticamente inmunes a los problemas de reducción de variabilidad genética que enfrentan las poblaciones pequeñas (Grant, 2006). Una población real difiere de una población ideal de Wright-Fisher de varias formas, por lo que es común que el tamaño efectivo poblacional difiera del tamaño censo (Wang, 2005). En el caso particular de los peces pelágicos la gran tasa de fecundidad que presentan junto a tasas de mortalidad alta, como es el caso del aleta amarilla, pueden conducir a una gran varianza en el éxito reproductivo (Grant, 2006). Sólo un pequeño porcentaje del desove que es liberado bajo las condiciones ambientales ideales logrará llegar a la etapa larvaria y consecuentemente será reclutada en la población adulta (Hedgecock, 1994). Se ha estimado que comúnmente el N_e es al menos diez veces más pequeño que el tamaño del censo poblacional, y en algunos casos incluso pueden variar en hasta tres órdenes de magnitud (revisión en: Grant, 2006). Estas tendencias se ven reflejadas en nuestros resultados, ya que el N_e estimado es dos órdenes de magnitud más pequeño que el censo poblacional estimado (Tabla 17). En poblaciones naturales con extensas capacidades migratorias y grandes tamaños efectivos poblacionales se espera encontrar una gran cantidad de flujo génico y niveles bajos de diferenciación poblacional, condiciones que se cumplen en la población de atún aleta amarilla del Pacífico oriental. Sin embargo cuando comparamos el N_e obtenido con el censo poblacional estimado nos podemos percatar que posiblemente la población esté sustentada por pocos individuos exitosamente reproductivos, lo cual incrementa la probabilidad de efectos negativos en las poblaciones, posible agotamiento y la consecuente reducción en la variabilidad genética ocasionada por la sobrepesca.

Tabla 17. Estimación de censo poblacional del atún aleta amarilla para los años de los muestreos. La estimación se realizó con el peso promedio (12.5 Kg) que registran los aleta amarilla. Datos obtenidos de la FAO (2009).

| Año | Captura en toneladas | Censo poblacional estimado |
|----------|-----------------------|----------------------------|
| 2002 | 4.4 x 10 ⁵ | 351 x 10 ⁵ |
| 2004 | 2.9 x 10 ⁵ | 233 x 10 ⁵ |
| 2005 | 2.8 x 10 ⁵ | 226 x 10 ⁵ |
| Promedio | | 270 x 10 ⁵ |

Es importante notar que la estimación del N_e presenta varias limitaciones, en primer lugar la estimación depende directamente de la tasa de mutación, ya que la fórmula para obtenerlo es $N_e = \theta/4\mu$, donde μ es la tasa de mutación por generación y no existe ningún consenso sobre la tasa de mutación más apropiada para trabajar microsátélites, variando entre 10^{-2} y 10^{-5} (Tautz, 1989; Weber y Wong, 1993). Por otro lado cuando se realiza una prueba con varios loci es importante tener en cuenta que la mutación para cada uno de ellos no es constante, y en el caso de no contar con información precisa sobre la tasa de mutación de cada uno de ellos los resultados se deben interpretar con especial cuidado.

La gran diferencia entre la estimación obtenida con DNAm (Ely *et al.* 2005) y nuestros datos, indica que posiblemente el marcador molecular de tipo DNAn aquí empleado no permita hacer una estimación confiable, debido a la incertidumbre acerca de su tasa de mutación, por lo que se recomienda ampliar el número de loci y poblaciones muestreadas y analizarlas tanto con marcadores de DNAn como con marcadores de DNAm, lo que permitiría obtener una estimación de los parámetros y la historia demográfica de las poblaciones con un mayor grado de certidumbre.

En casi todos los ambientes es prácticamente imposible registrar de forma concreta y en tiempo real los procesos de migración y flujo génico entre las poblaciones, y en el ambiente marino el observar estos procesos es un reto especialmente difícil de lograr. Los estudios con marcadores moleculares permiten estimar de forma indirecta pero precisa diferentes procesos demográficos tales como migración y flujo génico (O'Connell y Wright, 1997; Waples, 1998). Es muy importante resolver de forma precisa los patrones de flujo génico entre las poblaciones, ya que en el hipotético caso de que el efecto de la sobrepesca

origine el declive o el agotamiento de una población, es necesario saber si es viable su recuperación a través del reclutamiento de poblaciones adyacentes (Waples, 1998).

Los valores de emigrantes por generación resultaron muy variables, lo cual indica que las poblaciones no se conectan por completo y que la migración está influenciada por factores oceanográficos en el Pacífico oriental. En este análisis una vez más la población de Oaxaca 2004 presenta valores fuera de lo común; la inmigración hacia la población es prácticamente nula y al mismo tiempo los emigrantes que salen de la población son pocos. Según los resultados, la población de Oaxaca 2004 provee a las poblaciones de Perú y Oaxaca 2005 con pocos individuos por generación (siete en promedio), y no presenta flujo hacia la población de Ecuador. Este inusual comportamiento muestra que la población tiene un intercambio de individuos en un sentido del Ecuador hacia las poblaciones que se ubican en ambos extremos al norte y sur de la zona, y que ubicaría a la población de Oaxaca 2004 en una zona parcialmente aislada. La única alternativa posible para explicar esto es que el estimador presentó un sesgo importante al tamaño de muestra pequeño (N= 37).

Las poblaciones al norte y sur del Ecuador tienen un intercambio constante de migrantes. Desde Oaxaca 2005 salen 230 emigrantes por generación hacia la población de Perú, mientras que desde Perú hacia Oaxaca el número es menor (70). Esto representa evidencia de que el flujo genético a lo largo del Pacífico oriental es constante, lo cual propicia que las poblaciones no se diferencien del todo. Sin embargo la proporción de migrantes entre ambas poblaciones resulta desproporcionado, MIGRATE detecto asimetría en la dirección del el flujo genético entre las localidades que muestran una señal de divergencia genética espacial siendo mayor el flujo de migrantes desde Oaxaca 2005 hacia Perú que de forma inversa, lo cual sugiere que la dirección de los desplazamientos es de norte a sur. Considerando que las poblaciones ubicadas en el Ecuador intercambian migrantes en mayor proporción con Oaxaca y Perú, resultaría adecuado formular la hipótesis de aislamiento por distancia en esa dirección. Sin embargo dicho patrón no fue corroborado por lo que los patrones de migración podrían estar relacionados con factores estacionales y de tipo oceanográficos.

Las condiciones particulares del Océano Pacífico oriental sur podrían promover, en cierto grado, un aislamiento reproductivo en la zona, como se observa en la muestra de Perú. Esta región se caracteriza por presentar condiciones oceanográficas particulares, y

una temporalidad propia de desove (Schaefer, 1998). Al observar los hábitos migratorios del atún aleta amarilla y la aparente afinidad que presentan los individuos a sus sitios de alimentación (Schaefer *et al.* 2007), podemos pensar que este aislamiento geográfico, reproductivo y ecológico puede ser lo suficientemente grande para promover la existencia de diferenciación genética poblacional (Graves; 1998; Waples, 1998; Ward; 2000; Grant, 2006).

La población central de Ecuador 2004 mantiene un flujo migratorio importante en dirección norte y sur de su ubicación. De esta población por cada generación salen 1630 individuos en dirección a Oaxaca 2005 y 1760 hacia la población de Perú, lo cual coincide con los estudios realizados por Fink y Bayliff (1970) que a través de marca/recaptura propusieron que los patrones migratorios en el Pacífico oriental se dan entre dos grupos que viajaban desde el Ecuador, uno hacia el norte y otro hacia el sur. Dadas las características de la zona ecuatorial es posible que esta sea una zona de mezcla, desde la cual los atunes migran hacia el norte y sur. Este fenómeno migratorio no es bien comprendido dadas las características ecológicas que brinda la zona ecuatorial, ya que es factible pensar que los organismos se mantengan estables en zonas con condiciones idóneas. Una posible explicación a este fenómeno es que los atunes migren en dirección ecuatorial para aprovechar la larga temporada de alta productividad (surgencias) que se presentan en los diversos puntos de América central (Feidler, 1992; Tomczak y Godfrey, 1994) para posteriormente volver a sus respectivos sitios para la temporada reproductiva, sin embargo lamentablemente no existe ningún registro confiable que describa algún proceso de filopatría en el atún aleta amarilla.

Los valores de inmigración para la localidad del Atlántico son prácticamente nulos, lo cual es congruente debido a la obvia barrera geográfica que la separa del resto de las localidades. Sin embargo debido a la falta de diferenciación genética encontrada y al tamaño de muestra pequeño (N= 27) este resultado no es confiable por lo que su interpretación deber ser precautoria.

7.7 Relevancia y aportes

En estudios anteriores no se logró identificar divergencia poblacional en el Océano Pacífico oriental, sin embargo aquí se presentan evidencias que confirman las diferencias observadas por Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006) y descartan la posibilidad de la existencia de diferenciación genética temporal al sur del ecuador. Sin embargo aún no descarta la incidencia de este fenómeno en las poblaciones del norte.

El hecho de que Scoles y Graves no hayan detectado diferencias mediante sus estudios con DNAm_t entre muestras del Pacífico oriental del norte (Islas Revillagigedo) y del sur (Manta, Ecuador) de la línea ecuatorial, probablemente se deba al número pequeño de muestra que utilizaron (N=20 por cada localidad), ya que del total de 34 haplotipos que reportaron, tan sólo 20 se encontraron una sola vez. Aunado a esto, los microsatélites han probado ser eficientes para detectar diferenciación genética poblacional en zonas donde previamente no se había detectado utilizando otro tipo de marcadores moleculares (Ruzzante et al. 1997; O'Connell *et al.* 1998), principalmente por su alta tasa de mutación y su alto grado de polimorfismo.

Los resultados obtenidos por Appleyard *et al.* (2001) en donde se establece la homogeneidad genética del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental, se fundamentaron en un trabajo que no contenía el esquema de muestreo necesario para respaldar sus conclusiones. Los investigadores utilizaron tan sólo dos muestreos pequeños (N= 34 y 40) que se ubicaban muy cerca uno del otro en el extremo norte de la distribución del atún aleta amarilla (Baja California Sur y California, EUA) y la variación reportada provenía de tan solo uno de los seis microsatélites empleados en el estudio. Estas inconsistencias conducen a resultados esperados, que no definen la estructura genética de las poblaciones de atún aleta amarilla del Pacífico oriental.

Nuestros resultados confirman y complementan los hallazgos realizados por Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer (2006), quienes reportaron evidencias preliminares de diferenciación espacial entre poblaciones al norte y una población al sur del Océano Pacífico oriental. Se siguieron las recomendaciones hechas por los autores, sin embargo, no se logró descartar la existencia de divergencia temporal entre las dos muestras ubicadas al norte de la línea ecuatorial. Es por esto que se destaca la necesidad de incluir un nuevo muestreo de mayor tamaño de la región norte para confirmar la presencia o ausencia de

patrones de divergencia temporal. Así mismo se recomienda la inclusión de muestreos con réplicas temporales en el extremo norte de la distribución del atún aleta amarilla (al norte de los 21°N), zona en donde previamente se han reportado diferencias significativas (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2003).

La evidencia de diferenciación entre la localidad de Oaxaca 2005 y la localidad del Océano Atlántico encontrada con la prueba exacta de diferenciación ($X^2= 16.38$ $P= 0.037$), no es suficiente para establecer divergencia inter-oceánica. El tamaño de muestra de la localidad del Atlántico es muy pequeño, por lo que es deseable incrementar el número y tamaño de muestra, así como también la adición de réplicas temporales.

7.8 Situación del *stock*, perspectivas y recomendaciones

Una gran cantidad de los *stocks* pesqueros en el mundo están considerados como sobreexplotados o agotados (Marteinsdóttir y Pardoe, 2008). En el año 2004, según datos de la FAO 52% de los *stocks* en el mundo pertenecían al status de completamente explotados, 17% eran sobreexplotados y 7% ya se habían agotado (García *et al.* 2005). En el caso particular de los atunes cuatro *stocks* están considerados como sobreexplotados (Albacora del Atlántico norte, aleta azul del Atlántico oriental y del mar Mediterráneo y el patudo del Pacífico oriental y occidental-central) y dos *stocks* como agotados (aleta azul del Atlántico occidental y aleta azul del sureste) de un total de 21 *stocks* que se consideran en todo el mundo (Majkowski, 2007). Para el atún aleta amarilla del Pacífico oriental la situación no es tan desalentadora, sin embargo, es considerado como *stock* completamente explotado, es decir que está muy cercano a su máximo rendimiento y no hay esperanzas de incrementos sustentables en la captura (Majkowski, 2007). De modo que el riesgo de que el atún aleta amarilla en el Pacífico oriental se convierta en un *stock* sobre-explotado es alto.

Se ha calculado que en algunas pesquerías la mortalidad por pesca excede en hasta un 400% a la mortalidad natural (Mertz y Myers, 1998). Sin embargo, el descenso o incluso el cese del esfuerzo pesquero no garantiza, que las modificaciones ecológicas-evolutivas ocasionadas por la extracción de los recursos, se reviertan al estado original (Conover y Munch, 2002) por lo que identificar de forma precisa los procesos ecológicos, evolutivos y

genéticos, y los patrones de conectividad y flujo génico entre las poblaciones, resulta indispensable para acrecentar las posibilidades de permanencia y estabilidad de los recursos pesqueros.

En el atún aleta amarilla la proporción de sexos generalmente no se desvía de la proporción 1:1, sin embargo en ciertas clases de tamaño esa proporción se inclina hacia alguno de los dos sexos (Schaefer, 1998), y en ocasiones se ha observado que en clases de tamaños grandes las hembras son más vulnerables a la captura (Wild, 1994). Debido a el efecto ecológico-evolutivo que tiene la pesca sobre las poblaciones, esto podría estar ocasionando un efecto selectivo dirigido a cierto intervalo de tamaño en los aleta amarilla lo cual podría provocar serias modificaciones en la historia de vida de los organismos, promoviendo aceleración en madurez y la desviación en la proporción de los sexos. De confirmarse la existencia de una zona de desove en la porción sur del Pacífico oriental, implicaría que se captura una mayor proporción de hembras y/o peces de un clase de edad en particular que en el norte, lo cual podría incrementar el riesgo de que los efectos selectivos modifiquen las características biológicas, fenotípicas y ecológicas de las poblaciones en una escala regional. Las evidencias preliminares presentadas en este estudio indican que se debe definir con certeza la estructura genética de las poblaciones de atún aleta amarilla en el Pacífico oriental.

La dinámica de los recursos pesqueros apunta a que una pesquería sustentable puede colapsar económicamente incluso antes de que el recurso se encuentre en una situación inminente de riesgo de extinción biológica (Awise, 1994). Actualmente, a mi parecer, la forma en la que se implementan los planes de manejo y se establecen los límites de los *stocks*, no satisface la noción sobre pesquerías sustentables y no abordan de forma integral la problemática actual en el sector pesquero. Maijkowski (2007) apunta que la manera en la que se pueden optimizar los planes de manejo es incorporando mejores datos de captura, y que la evaluación de la situación de los recursos depende de la intensidad con al que se capturen y las respuestas de los *stocks* ante los acelerados niveles de la captura. Es decir, que la forma en la que se establecen los planes de manejo es realizando una evaluación de los parámetros poblacionales y pesqueros después de haber ejercido la presión en los recursos, y sin la inclusión de ningún dato sobre la ecología y la evolución de los organismos.

Dentro de una perspectiva más amplia, es importante notar que la apreciación de que los ambientes pelágicos pueden soportar grandes impactos ecológicos y antropogénicos se ha mantenido por varios siglos (Roberts y Hawkins, 1999). Pero las evidencias de que las interacciones entre la explotación intensiva de los recursos y la variabilidad ambiental aceleran el reemplazo de las especies y ocasionan cambios en los *stocks* pesqueros es contundente (Verity *et al.* 2002). En este mismo sentido, las pesquerías pelágicas tienen una influencia en diferentes componentes del ecosistema y en los procesos que desarrollan dentro de él, tales como fijación, secuestro e intercambio de carbono (revisión en: Verity *et al.* 2002).

En los últimos 30 años se ha producido un decremento sustancial en la biodiversidad del ecosistema marino que se espera que continúe, y que con alteraciones en los ecosistemas (influencia antropogénica i.e. pesca), aumentan considerablemente la probabilidad de que los ecosistemas presenten trayectorias inestables en cuanto a su estructura y función (Roberts y Hawkins, 1999; Pauly *et al.* 1998; 2002; Verity *et al.* 2002; Gell y Roberts, 2003).

El atún amarilla ocupa un lugar, junto con otros depredadores tope, estratégico en el ecosistema marino pelágico. por lo que es importante monitorear los efectos que podría tener la sobrepesca no sólo para la especie y su pesquería, si no que también para el resto de los organismos que se benefician, compiten, y dependen de ella.

7.9 Recomendaciones y propuestas de manejo

Se recomienda probar la hipótesis nula de panmixia del atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental, a través de un estudio más extenso que incluya un mayor número de localidades con tamaños de muestra grandes (> 100 individuos) con réplicas temporales y con un mayor número de loci de microsatélites. Así mismo se recomienda la aplicación de un segundo tipo de marcador molecular, preferentemente de DNAm, para distinguir si la diferenciación presenta restricciones originadas por dispersión sexual y establecer de forma más precisa el número efectivo poblacional y los procesos de demografía histórica del atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental.

En caso de confirmarse la presencia de divergencia, es muy importante incorporar estos datos a los planes de manejo que actualmente se llevan a cabo en el *stock* del atún aleta amarilla en Pacífico oriental, ya que en el supuesto caso de que las poblaciones estén pasando por un proceso de diferenciación genética es esencial dirigir esfuerzos para mitigar los procesos de tipo evolutivo (deriva génica) que pueden propiciar la pérdida en la variabilidad genética de las poblaciones, con la posible reducción en los tamaños poblacionales y las capturas en las pesquerías.

El establecimiento de reservas marinas ha demostrado que tienen un efecto benéfico para las pesquerías que se desarrollan en las zonas adyacentes a éstas, ya que funcionan como una red de migración de individuos adultos y jóvenes, una zona de exportación de larvas y huevos y dentro de las reservas las poblaciones se recuperan rápidamente y se encuentran adultos de mayor tamaño y más longevos (Gell y Roberts, 2003). La zona ecuatorial del Océano Pacífico oriental funciona como un área de mezcla entre las poblaciones de atún aleta amarilla al sur y norte de su ubicación, y aunque es exagerado proponer que sea establecida como una zona marina protegida, es importante, en caso de confirmar la divergencia poblacional, disminuir el esfuerzo pesquero dentro de esta área para promover el reclutamiento en los extremos del Pacífico oriental. De igual forma es importante identificar zonas de agrupación reproductiva y de rutas migratorias entre el norte y sur y el ecuador permitiría dirigir esfuerzos de conservación con la finalidad de mantener e incrementar el flujo genético entre las poblaciones.

Una labor esencial que debe ser implementada en los principales *stocks* pesqueros en el mundo, que son extraídos de forma intensiva directamente de las poblaciones naturales, es el monitoreo genético. Los patrones de variabilidad genética dentro y entre poblaciones pueden ser examinados directamente con la aplicación de marcadores moleculares o indirectamente con los modelos poblacionales y datos de referencia. Los estudios de variabilidad genética molecular son de vital importancia para la estimación de los niveles de conectividad entre las poblaciones y la diversidad dentro de ellas. Es necesaria la obtención de muestreos temporales para evaluar los efectos de las acciones de manejo. Una limitación para este propósito es la falta de datos históricos, ya que los descensos en abundancia más importantes registrados en los *stocks* de pesca se produjeron varias décadas antes de la aparición de métodos moleculares, como es el caso del Bacalao del Atlántico.

Sin embargo, el panorama que presenta el atún aleta amarilla en la actualidad permite que los esfuerzos generen un impacto positivo, o al menos que aminoren el impacto negativo de la pesca, ya que en general la abundancia de las poblaciones de aleta amarilla históricamente se ha mantenido en niveles altos.

Otra limitación de la aplicación de los marcadores moleculares para controlar la eficacia de la gestión y el manejo de las pesquerías es que los perfiles genéticos no responden en escala de tiempo tan cortos a los cambios ambientales y los procesos demográficos. Es por esto que se requiere que el manejo se desarrolle de una forma integral, combinando diferentes tipos de datos demográficos, ecológicos, ambientales, genéticos y evolutivos.

VIII. Conclusiones

1. A pesar de su alta capacidad migratoria, de su elevado número poblacional y de la ausencia de barreras físicas en su hábitat; el atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental presenta un patrón de diferenciación genética poblacional entre la región norte y sur de la línea ecuatorial que ha resultado congruente en dos estudios realizados con muestreos independientes.
2. La diferenciación observada puede ser producto la ocurrencia de eventos de desove diferencial que se dan, en diferentes temporadas, en la región norte y sur del Pacífico oriental, aunado a los movimientos migratorios pocos extensos del aleta amarilla.
3. Debido a que no se logró descartar la ocurrencia de fenómenos de diferenciación temporal en las poblaciones ubicadas en la región norte del Pacífico oriental, y a que no se descarta que el patrón de diferenciación observado se pudiera deber al efecto de un muestreo no aleatorio, se recomienda que estos resultados promuevan estudios más extensos donde se incrementen el número de loci estudiados y la cantidad y tamaño de las muestras y se incluyan réplicas temporales. De igual forma se recomienda la incorporación de un segundo marcador molecular a los estudios de tipo mitocondrial, para describir con mayor precisión el proceso demográfico actual e histórico de las poblaciones e investigar la existencia de eventos de homoplasias que podrían dificultar la detección de diferenciación poblacional.
4. El fenómeno de divergencia poblacional aquí descrito podría brindar elementos para la explotación sustentable del atún aleta amarilla disminuyendo el impacto de la pesca en su abundancia, su capacidad de reclutamiento, su diversidad genética y sus características ecológicas y evolutivas. Asimismo se sabe que en un caso extremo, el impacto generado en un *stock* pesquero de tanta importancia como es el del atún aleta amarilla del Pacífico oriental, podría tener consecuencias evolutivas, ecológicas y ambientales para el ecosistema marino pelágico.

5. Es por esto que se recomienda, en caso de confirmar dicho evento de divergencia poblacional, incorporar datos genéticos y evolutivos a los planes de manejo de la pesquería. Y en caso de ser necesario considerar que el atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental se compone de dos poblaciones diferentes, cada una de las cuales constituye una unidad de pesca independiente. Sobre las que los planes de manejo deben ser aplicados de forma diferencial.

6. Se propone la consideración de la región ecuatorial como una zona de mezcla prioritaria para la conservación del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental y la instauración de estrategias para fomentar la protección de las zonas intermedias que conectan a las poblaciones del sur y del norte con el Ecuador, considerando corredores biológicos esenciales para la mitigación de los efectos de la pesca intensiva.

7. Se considera necesario el establecimiento de un programa de monitoreo genético continuo, que permita examinar la eficacia de los planes de manejo y evaluar los efectos positivos o negativos que éstos tengan directamente en la variabilidad genética de las poblaciones.

IX. Referencias

- Appleyard SA, Grewe PM, Innes BH, Ward RD. (2001). Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western Pacific Ocean, inferred from microsatellite loci. *Mar. Biol.* 139: 383-393.
- Avise J.C. (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.
- Avise J.C. (1998). Conservation genetics in the marine realm. *J. Hered.* 89: 377-382.
- Balloux F. y N. Lugon-Moulin. (2002). Population structuring and microsatellites. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11: 155–165.
- Bartley D.M. (2005). Status of the world's fishery genetic resources. *The Role Of Biotechnology*. Villa Gualino, Turin, Italy.
- Beerli P. (2008). Migrate version 3.0 – a maximum likelihood and Bayesian estimator of gene flow using the coalescent. En: <http://popgen.scs.edu/migrate.html>.
- Blackburn M. (1964). Oceanography and the ecology of tunas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 3: 299-322.
- Block B.A., J. E. Keen, B. Castillo, H. Dewar, E. V. Freund, D.J. Marcinek, R.W. Brill y C. Farwell. (1997). Environmental preferences of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) at the northern extent of its range. *Marine Biology*. 130(1): 119-132.
- Boehlert G.W. y B.C. Mundy. (1994). Vertical and onshore-offshore distributional patterns of tuna larvae in relation to physical habitat features. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 107: 1-13.
- Calkins T.P. (1975). Geographical distribution of yellowfin tuna and skipjack tuna in the eastern Pacific Ocean, and fleet and total catch statistics, 1971-1974. *The Inter American Tropical Tuna Commission*. Vol. 17, No. 1. pp. 1-117.
- Carey F.G. y R.J. Olson. (1982). Sonic tracking experiments with tunas. *Int. Comm. Cons. Atlantic Tunas Collect. Sci. Papers*.
- Carlsson J., J. R. Mcdowell, P. Díaz-Jaimes, J.E. L. Carlsson, S.B. Boles, J.R. Gold y J.E. Graves. (2004). Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Mol. Ecol.* 13:3345–3356.
- Chakraborty R., M. Kimmel, D. Stivers, L. Davison y R. Deka. (1997). Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite loci. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 94: 1041–1046.
- Charlesworth B., P. Sniegowski, y W. Stephan. (1994). The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. *Nature*. 371: 215-220.
- Chow N., K. Hazama, T. Nishida, S. Ikame, y S. Kurihara. (2000). A preliminary genetic analysis on yellowfin tuna stock structure in the Indian Ocean using mitochondrial DNA variation. *Proc. IOTC* 3, 312–316.
- Cochrane K.L. (2000). The use of scientific information in the design of management strategies. En: *A fishery managers guidebook. Management measures and their application*. Cochrane K.L. (ed.) FAO Fisheries Technical Paper. No. 424. Rome. Pp. 231.
- CONAPESCA (2004). Carta nacional pesquera. Pp. 384.

- CONAPESCA. (2006). Anuario estadístico de acuicultura y pesca. Pp. 270.
- Conover D.O. y S.B. Munch. (2002). Sustaining Fisheries Yields Over Evolutionary Time Scales. *Science*. 297 (5578): 94 – 96.
- Creste S., A. Tulmann N. y A. Figueira. (2001). Silver stain detection of SSRs in denaturing polyacrylamide gels. Detection of Single Sequence Repeat Polymorphisms in Denaturing Polyacrylamide Sequencing Gels by Silver Staining. *Plant Molecular Biology Reporter* 19: 299–306.
- Crow J.F. y M. Kimura. (1970). An introduction to population genetics theory. Harper and Row, New York.
- Dammannagoda S.T., D.A. Hurwood y P.B. Mather. (2008). Evidence for fine geographical scale heterogeneity in gene frequencies in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the north Indian Ocean around Sri Lanka. *Fish, Res.* 90:147–157.
- Deriso R., T. Quinn, J. Collie, R. Hilborn, C. Jones, B. Lindsay, A. Parma, S. Saila, L. Shapiro y S.J. Smith. (1998). Improving Fish Stock Assessments. National Academy Press, Washington, DC 188 pp.
- Díaz P.J. (1992). Modelado de las pesquerías de túnidos en el Pacífico mexicano (atún aleta amarilla). Tesis de Maestría. UNAM. Pp. 72.
- Díaz-Jaimes, P. y Uribe-Alcocer M. (2003). Allozyme and RAPD variation in the eastern Pacific yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. *Fish. Bull.* 101: 769-777.
- Díaz-Jaimes P. and Uribe-Alcocer M. (2006). Spatial differentiation in the eastern Pacific yellowfin tuna revealed by microsatellite variation. *Fisheries Science*. 72:590-596.
- Dieringer D., y C. Schlötterer. (2003). Microsatellite Analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol. Ecol. Notes*. 3: 167-169.
- Di Rienzo A., A.C. Peterson, J.C. Garza, A.M. Valdés, M. Slatkin, N.B. Freimer. (1994). Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 91: 3166–3170.
- Eguiarte L. (1999). Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. En: Nuñez-Farfán J. y L. E. Eguiarte (eds.) *La Evolución Biológica*. Facultad de Ciencias, Instituto de Ecología, UNAM, CONABIO: 35-50.
- Elliott N.G. y R.D. Ward. (1995). Genetic relationships of eight species of Pacific tunas (Teleostei: Scombridae) inferred from allozyme analysis. *Marine and Freshwater Research*. 46(7): 1021 – 1032
- Ely B., J. Viñas, J.R Alvarado Bremer, D. Black, L. Lucas, K. Covello, A.V Labrie y E. Thelen. (2005). Consequences of the historical demography on the global population structure of two highly migratory cosmopolitan marine fishes: the yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *BMC Evolutionary Biology*, 5:19.
- Estoup A. L. Garnery, M. Solignac, J.M. Cornuet. (1995). Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*. 140: 679-695.
- Evanno G., S. Regnaut y J. Goudet. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.
- Excoffier L., P.E. Smouse y J.M. Quattro. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric

- distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*.131: 479-491.
- FAO. (2000). Tuna and tuna like species group. En: [ww.fao.org/fishery/topic/16082/en](http://www.fao.org/fishery/topic/16082/en)
- FAO. (2009). Fishery Statistical Collections. Global Tuna Catches by Stock. En: <http://www.fao.org/fishery/statistics/tuna-catches/en>.
- Fiedler P.C. (1992). Seasonal climatologies and variability of eastern tropical Pacific surface waters. U.S. Nat. Mar. Fish. Serv., Tech. Rep. 109: 1-65.
- Fink B.D. y W.H. Bayliff. (1970). Migrations of yellowfin and skipjack tuna in the eastern Pacific Ocean as determined by tagging experiments, 1952–64. *Inter-Am. Trop. Tuna Comm. Bull.* 15: 1–227.
- Falush D., M. Stephens M y J.K. Pritchard. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*. 164: 1567-1587.
- Frankham R., D.A. Briscoe, J.D. Ballou y K.H. McInness. (2002). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press. Pp. 617.
- Gaggiotti O.E., O. Lange, K. Rassman y C. Gliddon. (1999). A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. *Molecular Ecology*. 8: 1513–1520.
- Garcia S. M. (2005). Fishery science and decision making: dire straights to sustainability. *Bulletin of Marine Science*. 76:171–196.
- Gell F.R. y C.M. Roberts. (2003). Benefits beyond boundaries: the fishery effects of marine reserves *Trends in Ecology & Evolution*. 18(9): 448-455.
- Goldstein D.B., A.R. Linares, L.L. Cavalli-Sforza y M. Feldman. (1995). Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 92: 6723–6727.
- Gonzalez E.G. y R. Zardoya. (2007). Isolation and characterization of polymorphic microsatellites for the sardine, *Sardina pilchardus* (Clupeidae). *Mol Ecol Notes*. 7: 519-521.
- Gonzalez E.G, P. Beerli y R. Zardoya. (2008). Genetic structuring and migration patterns of Atlantic bigeye tuna, *Thunnus obesus* (Lowe, 1839). *BMC Evolutionary Biology*. 8: 252-264.
- Goudet J. (2002). FSTAT, a progame to estimate and test gene diversities and fixation indices, version 2.9.3. En: [<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>].
- Grant W.S. y B.W. Bowen. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J. Hered.* 89: 415-426.42.
- Grant W.S. Status and trends in genetic resources of capture fisheries. (2006). En: *Workshop on Status and Trends in Aquatic Genetic Resources: a Basis for International Policy*. 8–10 May 2006, Victoria, British Columbia, Canada. Bartley D.M. Harvey, B.J.; Pullin, R.S.V, eds. *FAO Fisheries Proceedings*. No. 5. Rome, FAO. Pp. 179.
- Graves J.E. (1998). Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. *J. Hered.* 89: 427-437.
- Guo S.W. y E.A. Thompson. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.

- Hardy O.J. y X. Vekemans X. (2002). SPaGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol Ecol Notes*. 2: 618-620.
- Hardy O.J., N. Charbonnel, H. Freville y M. Heuertz. (2003). Microsatellite allele sizes: A simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics*. 163: 1467-1482.
- Hedgecock D. (1994), Does variance in reproductive success limit effective population sizes of marine organisms. En: *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Beaumont AR (ed.). Pp. 122–134. Chapman & Hall, London.
- Hunter J.R. A.W. Argue, W.H. Bayliff, A.E. Dizon, A. Fonteneau, D. Goodman y G.R. Seckel GR. (1986). The dynamics of tuna movements: an evaluation of past and future research. Fisheries Technical Paper no. 277. New York: United Nations Food and Agriculture Organization.
- Hutchings J.A. y J.D. Reynolds. (2004). Marine fish population collapses: consequences for recovery and extinction risk. *BioScience*. 54: 297–309.
- IATTC. Inter-American Tropical Tuna Commission. (1984). Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission, 1983. Pp. 272.
- IATTC. Inter-American Tropical Tuna Commission. (1989). Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission, 1988. Pp. 288.
- IATTC. Inter-American Tropical Tuna Commission. (1989). Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission, 1989. Pp. 288.
- IATTC. Inter-American Tropical Tuna Commission. (2007). Annual report of the Inter-American Tropical Tuna Commission, 2006. Pp. 282.
- Ihssen P., H.E. Booke, J.F. Casselman, J.M. McGlade, N.R. Payne, F.M. Utter. (1981). Stock identification: materials and methods. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1838-1855.
- Jackson J. B.C., Kirby MX, Berger WH, Bjorndal KA, Botsford LW, Bourque BJ, Bradbury RH, Cooke R, Erlandson J, Estes JA, Hughes TP, Kidwell S, Lange CB, Lenihan HS, Pandolfi JM, Peterson CH, Steneck RS, Tegner MJ y Warner RR (2001). Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science*. 293: 629–638.
- Jarne P. y P.J Lagoda. (1996). Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in ecology and evolution*. 11(10): 424-429.
- Jennings S., P.R. Simon y J.D. Reynolds. (1999). Structural change in an exploited fish community: a consequence of differential fishing effects on species with contrasting life histories. *Journal of Animal Ecology*. 68(3): 617-627.
- Joseph, J., y F.R. Miller. (1988). El Niño and the surface fishery for tunas in the eastern Pacific. En: *Proceedings of the Tuna Fishery Research Conference, Far Seas Fish.Res.Lab. Maguro Gyogyo Kyogikai Gijiroku, Suisancho-Enyo Suisan Kenkyusho*, eds. 199–207.
- Kalinowski S.T. (2004). Counting alleles with rarefaction: Private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation Genetics* 5: 539–543.
- Kamimura T. y M. Honma. (1963). Distribution of the yellowfin tuna in the tuna longline fishing ground of the Pacific Ocean. *Rep. of Nansei Fish. Res. Lab.* 17: 131-153.

- Kikawa, S. (1966). The distribution of maturing bigeye and yellowfin and an evaluation of their spawning potential in different areas in the tuna longline grounds in the Pacific. Rep.Nankai Reg.Fish.Res.Lab. 23: 131–208.
- Kimura M. y J.F. Crow. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite populations. Genetics. 49: 725–738.
- Kimura M y T. Otha. (1978). Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 75: 2868–2872.
- Ladrón de Guevara G.C., G. González y C. Alejo-Plata. (2004). Caracterización de la pesca artesanal de especies altamente migratorias en la costa de Oaxaca, México. Poster.
En: www.mda.cinvestav.mx/eventos/Coastfish2007/Presentaciones/Posters/
- Laird P.W., A. Zijdervel, K. Linders, M.A. Rudnicki, R. Jaenisch y A. Berns. (1991). Simplified mammalian DNA isolation procedure. Nucl. Ac. Res. 19: 42-93.
- Latch E.K., G. Dharmarajan, G.J Glaubitz y O.E Rhodes Jr. (2006). Relative performance of Bayesian clustering software for inferring population substructure and individual assignment at low levels of population differentiation. Conserv Genet 7: 295–302.
- Leis JM, Trnski T., Harmelin-Vivien M, Renon JP., Dufour V, El Moundí MK, and Galzin R. (1991). High concentrations of tuna larvae (Pisces:Scombridae) in near-reef waters of french polynesia (Society and Taumotu islands). Bull. Mar. Sci. 48(1):150-158.
- Lindberg G.U. (1971). Families of the fishes of the world; a checklist and a key. Ak. Nauk.-Zool. Institut - Zool. Inst., Akad. Nauk SSSR, Leningrad.
- Majkowski J. (2007). Global fishery resources of tuna and tuna-like species. FAO Fisheries Technical Paper. No. 483. Rome, FAO. Pp.. 54.
- Marteindóttir G. y H. Pardoe. (2008). Effects of fishing on inter and intra stock diversity of marine resources. En: T. Kawamura, T. Takeuchi, T. D. Beard, Jr. and M. J. Kaiser, eds. Fisheries for Global Welfare and Environment, 5th World Fisheries Congress 2008: 27–43.
- Maunder M.N. y A. Aires-da-Silva. (2007). Condición del atún aleta amarilla en el Océano Pacífico oriental en 2007 y perspectivas para el futuro. IATTC Technical paper.
- McDowell J.R., P. Diaz-Jaimes y J.E. Graves. (2002). Isolation and characterization of seven tetra-nucleotide microsatellite loci from Atlantic northern bluefin tuna *Thunnus thynnus thynnus*. Mol. Ecol. Notes. 2: 214-216.
- Mertz G.y R.A. Myers. (1998). A simplified formulation for fish production. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 55:478–484.
- Miller, F.R., and R.M. Laurs. (1975). The El Niño of 1972–1973 in the eastern tropical Pacific Ocean. Bull.I-ATTC, 16(5): 403–48.
- Miyake P.M., N. Miyabe, y H. Nakano. (2004). Historical trends of tuna catches in the world. FAO Fisheries Technical Paper 467. Pp. 74.
- Moran D.M. (2003). Arguments for rejecting the sequential Boferroni in ecological studies. Oikos. 100: 403–405.

- Nakagawa S. (2004). A farewell to Bonferroni: the problems of low statistical power and publication bias. *Behavioral Ecology* 15(6):1044-1045.
- Nei M. (1978). Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics*. 89(3): 583–590.
- Nishida T. (1992). Considerations of stock structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Indian Ocean based on fishery data. *Fish. Ocean.* 1: 143–152.
- O'Connell M. y J.M. Wright. (1997). Microsatellite DNA in fishes. *Rev.in Fish Biol.* Fish.7:331-363
- O'Connell M., M.C. Dillon, J.M. Wright, P. Bentzen, S. Merkouris y J. Seeb. (1998). Genetic structuring among Alaskan Pacific herring populations identified using microsatellite variation. *Journal of Fish Biology.* 53(1): 150 – 163.
- Ortega G.S. (1998). Análisis de las fluctuaciones espacio temporal en la abundancia del atún en el Océano Pacífico Oriental. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Marinas. Univ. Nac. Aut. de México. 67pp.
- Pauly, D., V. Christensen., V. Dalsgaard., R. Froese y F. Torres. (1998). Fishing down marine food webs. *Science.* 279: 860–863.
- Pauly D., V. Christensen, S. Guénette, T.J. Pitcher, U.R. Sumaila, C.J. Walters, R. Watson y D. Zeller. (2002). Towards sustainability in world fisheries. *Nature.* 418: 689-695.
- Pauly D., R. Watson y J. Alder. (2005). Global trends in world fisheries: impacts on marine ecosystems and food security. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 360(1453): 5–12.
- Peakall R., P.E. Smouse. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6: 288–295.
- Policansky D. (1993). Evolution and management of exploited fish populations. In: Kruse, G., Eggers, D.M., Marasco, R.J., Pautzke, C., y Quin II, J. (eds.). *Proceedings of the International Symposium on Management strategies for exploited fish populations.* Alaska Sea Grant College Program Report No. 93-02, University of Alaska Fairbanks.
- Raymond M. y F. Rousset. (1995). GENEPOP version 3.1: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity.* 86: 248–249.
- Raymond M. y F. Rousset. (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution.* 49: 1280–1283.
- Rice W.J. (1989). Analysing tables of statistical tests. *Evolution.* 43: 223–225.
- Ricker W.E. (1981). Changes in the average size and average age of Pacific Salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38(12): 1636-1656.
- Roberts C.M. y J.P. Hawkins. (1999). Extinction risk in the sea. *Trends in Ecology and Evolution.* 14: 241–246.
- Rosa, H. Jr. (1950). Scientific and common names applied to tunas, mackerels and spearfishes of the world with notes on their geographical distribution. Washington, FAO, Pp.. 235.
- Ruzzante D.E., T. Christopher, C. Doug y V.G. Sally. (1997). Genetic differentiation between inshore and offshore Atlantic cod (*Gadus morhua*) off Newfoundland: a test and evidence of temporal stability. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54(11): 2700–2708.

- Ryman N., F. Utter y L. Laikre. (1995). Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Rev. Fish. Biol. Fish.* 54 (4): 417-446.
- Ryman N. y P.E. Jorde. (2001). Statistical power when testing for genetic differentiation. *Molecular Ecology.* 10(10): 2361 – 2373.
- Ryman N. y S. Palm. (2006). POWSIM: a computer program for assessing statistical power when testing for genetic differentiation. *Mol. Ecol. Notes.* 6: 600–602.
- Saitou N. y M. Nei. (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Schaefer K.M. (1998) .Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern pacific ocean. *Inter-american tropical tuna commission Bulletin.* 21(5). 205-272.
- Schaefer K.M., D.W. Fuller y B.A. Block. (2007). Movements, behavior, and habitat utilization of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the northeastern Pacific Ocean, ascertained through archival tag data. *Mar. Biol.* 152: 503-525.
- Schlötterer C y J Pemberton. (1998). The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations—a critical review. En: *Molecular Approaches to Ecology and Evolution.* R. desalle and B. Schierwater (eds). Birkhäuser Verlag AG, Basel. 1998. Pp. 364.
- Schneider S., D. Roessli y L. Excoffier. (2000). ARLEQUIN, Version 2.0: a Software for Population Genetics Analysis. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva, Geneva, Switzerland.
- Scoles D.R. y J.E. Graves. (1993). Genetic analysis of the population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from the Pacific Ocean. *Fish. Bull.* 91: 690-698.
- Shimada B.M. y M.B. Schaefer. (1956). A study of changes in fishing effort, abundance, and yield for yellowfin and skipjack tuna in the eastern tropical Pacific Ocean. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm. Bull.*, 1:351- 421.
- Shingu, P.K. Chiomi, Tomlinson, y C.L. Peterson. (1974). Un examen de la pesca palangrera japonesa de atunes y peces espada en el Océano Pacífico oriental, 1967-1970. *Reportes IATCC.*
- Shriver M.D., L. Jin, R. Chakraborty y E. Boerwinkle. (1993). VNTR allele frequency distribution under the stepwise mutation model. *Genetics.* 134: 983-993.
- Sinclair A.F., DP. Swain y J.M. Hanson. (2002). Measuring changes in the direction and magnitude of size-selective mortality in a commercial fish population. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 59(2): 361-371.
- Slatkin M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.* 139: 457-462.
- Smith P.J. (1994). Genetic diversity of marine fisheries resources. *FAO Fish. Tech. Paper.* 344. Rome, FAO. 53p.
- Suárez-Sánchez J., W. Ritter-Ortiz, C. Gay-García y J. Torres-Jácome. (2004). ENSO-tuna relations in the eastern Pacific Ocean and its prediction as a non-linear dynamic system. *Atmósfera.* 4: 245-258.
- Suzuki Z, P.K. Tomlinson y M. Honma. (1978). Population structure of Pacific yellowfin tuna. *Bull. Inter-Am. Trop. Tuna Comm.* 17: 273–441.
- Sverdrup H.U. (1942). *The oceans. their physics, chemistry, and general biology.* Prentice-Hall. New Jersey.

Pp. 1087.

- Tamura K., J. Dudley, M. Nei y S. Kumar. (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Tautz D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*. 17(16): 6463-6471.
- Tomczak M. y JS. Godfrey. (1994). *Regional Oceanography: an Introduction*. 2da ed. Daya publishing House. Nueva Dheli, India. Pp. 390
- Trites A.W., V. Christiansen y D. Pauly. (1997). Competition between fisheries and marine mammals for prey and primary production in the Pacific Ocean. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*. 22: 173–187.
- Ueyanagi S., K. Mori y Y. Nishikawa. (1969). Research on distribution of larvae. S. Ser. Far Seas Fish. Res. Lab. 1: 7–12.
- Ulanowicz, R.E. y Puccia, C.J. (1990). Mixed trophic impacts in ecosystems. *Coenoses*. 5: 7–16.
- Valdes A.M., M. Slatkin y N.B. Freimer. (1993). Allele Frequencies at Microsatellite Loci: The Stepwise Mutation Model Revisited. *Genetics*. 133: 737-749.
- Van Oosterhout C., W.F. Hutchinson, P.M.D. Wills y P. Shipley. (2004). MICROCHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes*. 4: 535–538.
- Verity P.G., V. Smetacek y T.J. Smayda. (2002). Status, trends and the future of the marine pelagic ecosystem *Environmental Conservation*. 29(2): 207–237.
- Wang J. (2005). Estimation of effective population sizes from data on genetic markers. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 360(1459): 1395-1409
- Waples R.S. (1998). Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Heredity*. 89:438-450.
- Ward R.D. y P.M. Grewe. (1994). Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries. En: *Molecular Genetics in Fisheries*. Carvalho G.R., T.J. Pitcher eds. London Chapman and Hall. Pp 29-54.
- Ward R. D., M. Woodwark, D. O. F. Skibinski. (1994). A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *J Fish Biol*. 44: 213 – 232.
- Ward R.D., N.G. Elliott, P.M. Grewe y A. Smolenski. (1994). Allozyme and mitochondrial DNA variation in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the Pacific Ocean. *Mar. Biol*. 118: 531– 539.
- Ward R.D. N.G. Elliott, B.H. Innes, A.J. Smolenski y P.M. Grewe. (1997). Global population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, inferred from allozyme and mitochondrial DNA variation. *Fish. Bull*. 95(3): 566-575.
- Ward R.D. (2000). Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*. 420: 1:191-201.
- Weber J.L. y C. Wong. (1993). Mutation of human tandem repeats. *Hum. Mol. Genet*. 2: 1123-1128.
- Weir B.S., C.C. Cockerham. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 38: 1358–1370.
- Wild A. (1994). A review of the biology and fisheries for yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the Eastern Pacific Ocean. En: *Interactions of Pacific Tuna Fisheries*. FAO Fish. Tech. Pap. 336/2. Rome.

- Wright S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323–354.
- Wright J.M. y P. Bentzen. (1994). Microsatellites: genetic markers for the future. *Rev. in Fish Biol. and Fish.* 4(3): 384-388.
- Wyrski K. (1967). Circulation and water masses in the eastern equatorial Pacific Ocean. *Int. J. Oceanol. Limnol.* 1: 117–147.
- Yuen H.S.H. y F.C. June. (1957). Yellowfin tuna spawning in the central equatorial Pacific. US Fish. United States Government Printing Office.
- Zhu Y., D. C. Queller y J. E. Strassmann. (2000). A phylogenetic perspective on sequence evolution in microsatellite loci. *Mol. Evo.* 50(4): 324-338.

Apéndice I

Preparación de gel de Poliacrilamida.

1. Limpiar los vidrios a profundidad con dH₂O y etanol dos veces.
2. Al vidrio que tendrá el gel adherido se le aplica 30 µL por cada orilla de una mezcla de 1mL (95% Etanol + 5% Ácido acético) + 5µL de Xileno Cianol, que funciona como pegamento.
3. Al vidrio que no tendrá el gel adherido se le aplica un repelente: SigmaCote (Sigma-Aldrich).
4. Colocar los separadores y unir los vidrios.
5. Realizar la mezcla de poliacrilamida, sin incluir el TEMED y revolver.
6. Adicionar el TEMED hasta el final e inmediatamente verter la mezcla entre los dos vidrios antes de que se polimerice.
7. Dejar reposar el gel al menos 1 hora antes de utilizarlo.

| Reactivo | Cantidad | Fórmula |
|-----------------------|------------|--|
| Urea-Mix | 41.86 (mL) | 49.4 g. de Urea (Sigma-Aldrich) + 11.75 mL de buffer TBE 10 X ¹ aforado en 100 mL dH ₂ O |
| Acrilamida-Mix (19:1) | 7.5 (mL) | 38 g. de Acrilamida (Sigma-Aldrich) + 2 g. de Bis-Acrilamida (Sigma-Aldrich) aforado en 100 mL dH ₂ O |
| APS 10% | 600 (µL) | 1 g. de Persulfato de Amonio en 10 mL dH ₂ O |
| TEMED | 42.85 (µL) | Tetrametiletilenodiamina (Sigma-Aldrich) |
| Total | 50 (mL) | |

¹ Buffer TBE 1X: 108 g. de Trizma Base (Sigma-Aldrich) + 55 g. de Ácido Bórico (Sigma-Aldrich) + 9.3 g. de EDTA (Sigma-Aldrich) aforado en 1 L. dH₂O

Apéndice II

Protocolo de tinción de plata. Modificado de Creste *et al.* (2001).

| Paso | Reactivo y Fórmula | Tiempo |
|--------------------|---|-------------|
| 1. Fijación | 10% etanol, 1% ácido acético | 10 minutos |
| 2. Lavado | Agua | 1 minuto |
| 3. Pre-tratamiento | 1.5% Ácido Nítrico | 3 minutos |
| 4. Lavado | Agua | 1 minuto |
| 5. Plata | 0.2% AgNO ₃ | 20 minutos |
| 6. Lavado | Agua | 1 minuto |
| 7. Revelado | 30 g Na ₂ CO ₃ , 0.54 mL formaldehído 37%. (12°C) | 4-7 minutos |
| 8. Baño de paro | 5% Ácido acético | 5 minutos |

Se deben tomar en cuenta algunas recomendaciones para obtener mejores resultados:

1. Todas las soluciones y los lavados se deben realizar con agua ultra pura.
2. El agitado en todos los pasos debe ser lento.
3. No demorar mucho tiempo entre un paso y otro.
4. La solución reveladora se debe mantener a 12°C y el formaldehído debe ser incorporado a la solución hasta el momento en que se vaya a utilizar.
5. En el revelado verter primero $\frac{1}{4}$ parte de la solución reveladora y esperar a que se oscurezca, desechar y poner el resto.

Apéndice III

Corrimiento de microsatélites en gel de Poliacrilamida.

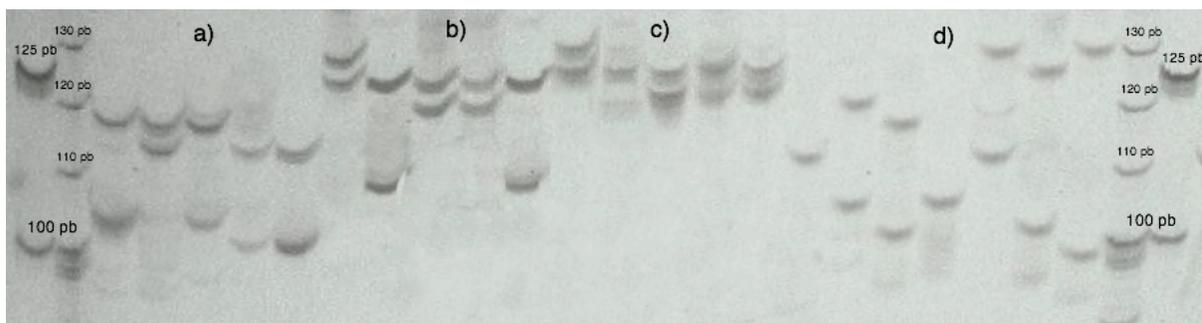


Imagen. Fotografía digital de un gel de poliacrilamida que contiene los 4 loci utilizados en este estudio y los marcadores moleculares (25pb y 10pb) en cada extremo del gel. a) Tth5 (cinco muestras) b) Tth10 (cinco muestras) c) Tth21 (cinco muestras) d) Tth34 (siete muestras).