



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

**Análisis espacial de la variación genética el atún
aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el océano
Pacífico mediante microsatélites**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA

Nadia Sandoval Laurrabaquio Alvarado

Director de tesis: Dr. Píndaro Díaz Jaimes

Asesor Interno: Dr. Isaías H. Salgado Ugarte

2012

A mi madre por su vida

A Maya Ilián por su sonrisa

Agradecimientos

Todo proyecto comienza como un sueño, un anhelo que sólo puede realizarse con el coraje y la entrega suficiente, pero sobretodo con el apoyo de aquéllos seres para quiénes las palabras jamás serán suficientes en agradecimiento de cada momento, acto o pensamiento que fungieron como fuerza principal para su culminación.

Quiero en primer lugar agradecer y reiterar mi enorme admiración para la persona a quién debo mi vida entera, quién ha estado conmigo en cada paso, apoyándome, aconsejándome, y ante todo amándome incondicionalmente. Gracias mamá porque no pude tener una mejor guía.

A mi papá:

Gracias por tu ejemplo de dedicación y entrega al trabajo, por todo tu apoyo, cariño, los juegos, las risas y por ser una persona esencial en mi proyecto de vida.

A mis hermanos:

Gracias Mirelle y César por ser mis compañeros de vida, amigos y hermanos, por ser personas admirables a quién respeto, amo y debo invaluable pedazos de mi existencia.

Gracias también por su ayuda y consejos.

Gracias Mirelle y Marco Antonio por brindarme la dicha de ser tía de un ser hermoso, Maya Ilián, quién se ha convertido en una razón más para luchar y disfrutar cada día.

A mi familia:

Gracias abuelos[†], abuelita, tías (tíos) y primos porque su cariño y apoyo en todo momento es la principal motivación y fuerza que impulsa mi superación profesional y personal.

A mis amigos:

Los que han estado conmigo siempre, Cynthia, Karla, Martha, Sandra, Gabriela y Daniel, a los que se han ido integrado a mi vida, Linda, Sacnité, Rodrigo y Josué, así como a mis compañeros de la FES Zaragoza por lo aprendido, compartido y disfrutado.

A mis compañeras y compañero de laboratorio:

Linda, Natalia, Silvia, Erika, Nataly, Xóchitl, Caro y Josué, quiénes se han convertido en mis cómplices, amigos y aliados, quiénes convierten el arduo trabajo y frustraciones en risas y gratos momentos.

A mi asesor de tesis:

Gracias Dr. Píndaro, por su siempre valiosa disposición al mejoramiento y esclarecimiento de dudas, por su enseñanza que convirtió en realidad este proyecto.

Al Dr Manuel Uribe Alcocer por su invaluable apoyo.

A mis sinodales y asesor interno:

Por sus valiosas aportaciones en este escrito.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a los profesores de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza q quién debo mi formación como profesionista.

Lista de figuras

Figura	Descripción
Figura 1 (pag. 17)	Esquema de la especie <i>Thunnus albacares</i> . Fuente: Collette y Nauen 1983 y clasificación.
Figura 2 (pag. 19)	Mapa de Distribución de <i>Thunnus albacares</i> . Fuente: Página del Museo de Historia Natural de Florida. http://www.flmnh.ufl.edu/fish/gallery/descript/yellowfintuna/yellowfintuna.html
Figura 3 (pag. 20)	Movimientos registrados del marcaje satelital en Atún aleta amarilla. Fuente: Hampton <i>et al.</i> , 2004.
Figura 4 (pag. 21)	Corrientes superficiales del Océano Pacífico. Fuente: Talley <i>et al.</i> , 2011.
Figura 5 (pag.23)	Lista de las diez especies principales en captura marina en el 2008. Fuente: FAO, 2010.
Figura 6 (pag. 23)	Captura (en toneladas) de las principales especies de atunes por océano. Fuente: Majkowski, 2007.
Figura 7 (pag. 24)	Captura de las principales especies de atunes capturados en el Pacífico. Fuente: Majkowski, 2007.
Figura 8 (pag. 25)	Delimitación de la región del Pacífico Central-Occidental. Fuente: WCPFC 2011.
Figura 9 (pag. 26)	Captura anual total de Atún aleta amarilla en la región Occidental-Central del Pacífico. Fuente: Langley <i>et al.</i> , 2011.
Figura 10 (pag. 28)	Capturas en toneladas por red de cerco de atunes por especie: y tipo de lance entre 1995 y 2010 en el OPO. Fuente: CIAT, 2011.
Figura 11 (pag. 29)	Capturas totales en las pesquerías de cerco y capturas retenidas de las pesquerías de caña y palangre de atún aleta amarilla en el OPO entre 1975-2010. Fuente: CIAT, 2011.

Figura 12 (pag. 33)	Ejemplo de una región microsatelital. Fuente: Beerli 2008.
Figura 13 (pag. 39)	Mapa de ubicación de las localidades de estudio.
Figura 14 (pag. 54)	Gráfica de diversidad genética por población y <i>locus</i> .
Figura 15 (pag. 54)	Gráfica que muestra comparativamente los valores de la Heterocigosis esperada (H_e) y la Heterocigosis observada (H_o) por población.
Figura 16 (pag. 60)	Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: corrimiento de las siete localidades probando $k=1-10$.
Figura 17 (pag. 60)	Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: corrimiento de las localidades agrupadas en regiones (occidental– central-oriental) probando $k=1-5$.
Figura 18 (pag. 61)	Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: corrimiento de las localidades agrupadas en regiones (Occidental –Oriental) probando $k=1-3$.
Figura 19 (pag. 63)	Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: corrimiento de las localidades agrupadas en regiones (occidental central-oriental) probando $k=1-3$.
Figura 20 (pag. 64)	Resultados del PCA, los números representan a las siete poblaciones analizadas.

Lista de tablas

Tabla	2): 111ción
Tabla 1 pag. (38)	Localidades utilizadas señalando el número de individuos por localidad (n), año de muestreo, abreviación y coordenadas.
Tabla 2 pag. (45)	Cebadores utilizados: secuencia, rango alélico reportado y observado y la temperatura de alineamiento que utilizada.
Tabla 3 pag. (55)	Estimados de diversidad genética por localidad y <i>locus</i> .
Tabla 4 pag. (57)	Comparaciones poblacionales pareadas, valores de significancia obtenidos con la prueba exacta de heterogeneidad de frecuencias y los valores de F_{ST}
Tabla 5 pag. (58)	Valores obtenidos para los tres estadísticos de Fisher así como el valor de significancia (P), para los AMOVA realizados agrupando a las poblaciones en oriental-central-occidental y oriental-occidental.
Tabla 6 pag. (62)	Valores obtenidos para los tres estadísticos de Fisher, así como el valor de significancia (P), para el AMOVA realizado, agrupando a las localidades de la región central-occidental y oriental.
Tabla 7 pag. (65)	Tamaño efectivo poblacional
Tabla 8 pag. (66)	Número de migrantes estimado entre localidades
Tabla 9 pag. (67)	Poder estadístico estimado.

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
Análisis de componentes principales	ACP ó PCA, por sus siglas en inglés
He	Heterocigosidad esperada
Ho	Heterocigosidad observada
H-W	Hardy-Weinberg
Hw08	Hawái 2008
Fi93	Filipinas 1993
N	Tamaño poblacional
Na	Número de alelos
Ne	Tamaño efectivo poblacional
Oax04, Oax05	Oaxaca 2004 y 2005 respectivamente
OPO	Océano Pacífico oriental
OPOC	Océano Pacífico occidental-central
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés.
Pe04, Pe05	Perú 2004 y 2005, respectivamente
R	Riqueza alélica
Tw04	Taiwán 2004

Índice

	Página
Resumen	11
Abstract	12
Introducción	13
Marco teórico	16
➤ Atún aleta amarilla	16
▪ Taxonomía	16
▪ Desove y hábitos reproductivos	17
▪ Distribución	18
➤ Océano Pacífico	20
➤ Pesca de atún aleta amarilla en el océano Pacífico	22
▪ Pesca de atún aleta amarilla en el océano Pacífico occidental-central	25
▪ Pesca de atún aleta amarilla en el océano Pacífico occidental	26
➤ Unidades de administración pesquera (<i>stocks</i>)	29
➤ Genética en el manejo sustentable de pesquerías	30
➤ Microsatélites	31
➤ Estructura genética	33
➤ Estructura poblacional y genética de <i>Thunnus albacares</i>	33
Hipótesis, objetivo principal y objetivos particulares	36
Metodología	37
➤ Obtención de muestras	37
➤ Extracción de ADN	39
➤ Amplificación por PCR	40
➤ Genotipificación	41
➤ Análisis de datos	42

Resultados	52
➤ Equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento	52
➤ Evaluación de diversidad genética	53
➤ Diferenciación poblacional	56
➤ Estructura genética	57
➤ Tamaño efectivo poblacional y flujo	64
➤ Prueba de poder estadístico	66
Discusión	67
➤ Diversidad genética	67
➤ Equilibrio de Hardy Weinberg (H-W) y Desequilibrio de ligamiento	69
➤ Diferenciación poblacional	70
➤ Tamaño efectivo poblacional y flujo génico	75
Conclusión	79
Referencias	80
Apéndices	90
I	90
II	91
III	92

Resumen

Determinar la estructura genética poblacional del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el océano Pacífico ha sido un tema de interés para algunos investigadores desde hace algunas décadas dada su importancia comercial. A pesar de contar con numerosos datos de marcaje y recaptura que se señalan que la migración es limitada entre regiones, estudios con diversos marcadores moleculares han mostrado discrepancias al evaluar el grado de flujo genético entre diversas localidades de la mencionada cuenca oceánica. Por lo anterior, el presente análisis se planteó con la finalidad de contribuir al esclarecimiento de dicha estructura y aportar información valiosa al manejo sustentable de la especie.

Mediante el análisis de siete *loci* microsatelitales en 276 individuos de atún aleta amarilla se detectó diferenciación genética de muestras procedentes de la región oriental (Oaxaca y Perú) y occidental (Filipinas y Taiwán) del océano Pacífico, en coincidencia con diversos estudios que incluyen datos morfométricos, de marcaje y genéticos. También son reportadas diferencias entre la región central (Hawái) con la región oriental, especialmente en las comparaciones con las muestras del Pacífico suroriental (Perú), mientras que no se observan diferencias entre la región central y occidental.

Los resultados del presente análisis señalan que las mayores diferencias se detectan de agrupar la zona centro y occidente del Pacífico respecto de la zona oriental, lo que resulta coincidente con el estudio realizado por Ward *et al.*, (1994) y a la estructura espacial designada actualmente para el atún aleta amarilla en el océano Pacífico.

Por otro lado, fueron también detectadas señales de diferenciación entre la región al sur y norte del Ecuador en la región del Pacífico oriental, lo que justificaría la separación de la oriental en dos diferentes unidades de pesca pertenecientes a las regiones mencionadas, consistente con artículos anteriores (Morales, 2009; Díaz *et al.*, 2006), como también una señal de diferenciación temporal entre dos muestreos de Perú correspondientes a los años 2002 y 2005.

Los niveles de flujo genético resultaron ser bajos entre todas las localidades estudiadas (<1), lo que concuerda con las señales de divergencia poblacional encontradas. Por otro lado la estimación del tamaño efectivo poblacional (N_e), resulta en valores menores, de entre 217 y 236 aproximadamente, a los reportados con anterioridad, entre 4000 y 12000 aproximadamente.

Abstract

The evaluation of the population genetic structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Pacific Ocean has been a major issue for some researchers since decades ago due to its commercial importance. In spite of tagging and recapture data indicate limited migration between regions, studies using a variety of molecular markers have shown discrepancies in evaluating the gene flow extent between localities in the Pacific.

Because of this, we used a set of microsatellite *loci* to study the population genetic structure of yellowfin tuna in the Pacific Ocean in order to provide valuable information in delineating sustainable management strategies.

The analysis of the genetic variability of seven microsatellite *loci* in a sample of 276 individuals of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the Pacific ocean, detected genetic differences between samples from the eastern (Oaxaca and Peru) and western region (Philippines and Taiwan), agreeing with several studies based on morphometric, tagging and genetic data. Were observed also differences between central and eastern regions, especially in the comparison with the southeastern Pacific sample (Peru) whereas no differences between the central (Hawaii) and western zone were observed.

The AMOVA analysis indicated that major differences occurred when the central and western samples were joined into the western Pacific region, and compared with the eastern Pacific. This result is coincident with the previous study of Ward *et al.*, (1994) but also with the currently spatial regionalization designed for the yellowfin tuna in the Pacific Ocean for statistical purposes.

Additionally, were detected genetic differences between locations to the South and North from the Ecuador in the eastern Pacific region that could justify the division of the eastern Pacific population into the north and south stocks, according to previous studies (Morales 2009, Díaz *et al.*, 2006).

The genetic flow levels resulted in low values between all the localities studied (<1) according with the population divergence levels found in the present study. Finally, the population effective size (N_e), was lower form 217 to 236 proximately) than values previously reported, 4000 to 12000 proximately.

Introducción

El incremento en la demanda mundial de productos pesqueros se ha duplicado en las últimas tres décadas (Martínez, 2005), lo que ha provocado que en años recientes aumente el número de pesquerías en riesgo de sobreexplotación e incluso extinción (Fernández, 2006). Es por esto, que una de las prioridades dentro de la investigación científica asociada al sector pesquero, es encontrar la manera de mantener en niveles sustentables dicha actividad económica para beneficio de la sociedad que depende de ésta (Arreguín, 2006) y de las mismas poblaciones explotadas.

El atún aleta amarilla *Thunnus albacares*, es considerado de los recursos pesqueros con mayor valor comercial e importancia alimenticia en el mundo y por tanto de los más ampliamente comercializados (Noguez *et al.*, 2007). Esto, en buena parte debido a que su amplia distribución, lo convierte en un recurso capturado por diversos países y artes de pesca. Dado que la mayor cantidad de atún aleta amarilla es extraída del océano Pacífico, resulta imprescindible y más urgente la implementación de medidas que aseguren el manejo adecuado para la especie en esta zona.

Una medida llevada a cabo para lograr la conservación de los recursos pesqueros, ha sido la definición de unidades de administración pesquera (UP) o *stocks* dentro del ámbito de distribución geográfica de la especie. Esta medida pretende evitar la captura

desproporcionada en las diferentes zonas donde opera la flota. Usualmente, la definición de dichas unidades operativas se basa principalmente en estadísticas de captura, dinámica poblacional, datos morfométricos y de marcaje-recaptura, entre otros.

Dado que el planteamiento de políticas para el manejo adecuado de cualquier recurso natural debe sustentarse en el conocimiento pleno de su biología, la mencionada estrategia de conservación podría resultar incompleta al no considerar características intrínsecas de las poblaciones relacionadas con aspectos ecológicos y evolutivos que juegan un papel importante en su adaptación al entorno como lo es la variabilidad genética involucrada. Ésta constituye una característica de suma importancia ya que confiere a las especies la capacidad para sobrevivir a los crecientes cambios ambientales, y puede verse disminuida por el impacto provocado por la sobreexplotación (Mustafa, 1999).

El estudio de la variabilidad genética en las poblaciones se torna relevante al proveer información respecto de la existencia de aislamiento genético en las poblaciones, situación que permitiría identificar unidades de manejo considerando los procesos evolutivos responsables de su adaptación al medio ambiente y proveyendo así elementos para preservar la diversidad genética de las mismas.

La genética de poblaciones es una disciplina que nos ofrece la base teórica, para entender los procesos adaptativos y de evolución de las especies, para poder en cierta medida hacer predicciones sobre su estatus en el futuro (Eguiarte *et al.*, 1990) lo que sin lugar a dudas, la convierte en una herramienta que debe ser considerada en la toma de decisiones sobre administración de las pesquerías.

Los estudios de genética poblacional se basan en el análisis de diversos marcadores moleculares, los cuales representan moléculas de proteínas o segmentos de DNA con los que es posible detectar la variación genética. Entre la gran variedad de marcadores moleculares existentes los microsatélites (segmentos cortos de ADN de 1-6 pb de longitud, repetidos en tándem) (Selkoe *et al.*, 2006; van Oppen *et al.*, 2000). Estos marcadores moleculares, analizados en este proyecto, han sido ampliamente utilizados en estudios de genética poblacional, los cuales permiten estimar de manera confiable los niveles de

variación genética y analizar la existencia de procesos de divergencia genética entre poblaciones (Aranguren et. al 2005), lo anterior gracias a características como su alto nivel de polimorfismo, herencia mendeliana simple y amplia distribución en el genoma.

Los atunes en general han sido considerados buenos nadadores, dadas algunas de sus condiciones morfológicas tales como su cuerpo fusiforme, cabeza alargada y boca pequeña en relación con el cráneo, lo que ha llevado a considerar que dichas especies no tienen limitantes en su movilidad alrededor de todo el océano e incluso entre océanos (Mustafa, 1999). No obstante, los movimientos que se han detectado mediante estudios de marcaje en individuos de atún aleta amarilla, señalan que la especie recorre distancias de cientos más que de miles de kilómetros, existiendo por lo tanto intercambio limitado entre individuos de la zona oriental y occidental del océano Pacífico y entre la zona al norte sur del ecuador en el Pacífico oriental, lo que se ha visto reflejado en diferencias en la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) así como morfométricas, entre dichas áreas (FAO, 2010).

Pese a toda esta información, la determinación de la estructura genética de la especie mediante información genética ha supuesto un reto mayor, más aún cuando se han presentado discrepancias entre los resultados obtenidos en diversos estudios, lo que resalta la necesidad de realizar proyectos que aportando evidencia adicional, contribuyan a dilucidar la estructura espacial de *Thunnus albacares* en el Pacífico.

Con base en lo anterior, el presente proyecto se planteó con la finalidad de contribuir en la definición de la estructura genética del atún aleta amarilla en el océano Pacífico, pretendiendo detectar la existencia de poblaciones genéticamente diferenciadas entre las regiones occidental, central y oriental de dicha cuenca, mediante el análisis de siete *loci* microsatélites, lo que es de suma importancia para lograr, de confirmar la diferencia entre dichas regiones, el establecimiento de unidades de pesca que requieran manejo diferencial para lograr la administración adecuada de este recurso.

Marco teórico

Atún aleta amarilla -*Thunnus albacares* (Bonnaterre, 1788)

Taxonomía

El atún aleta amarilla fue descrito por primera vez por Bonnaterre en 1788, y fue nombrado *Scomber albacares*. Este pez tuvo diferentes nombres hasta que en 1953 se usó la combinación *Thunnus albacares*. El nombre del género es derivado del griego “Thynnus” que significa atún (Figura 1).

La familia Scombridae a la que pertenece el atún aleta amarilla, está compuesta de 15 géneros y 49 especies. Los miembros de esta familia son principalmente marinos y mayoritariamente de hábitos pelágicos (Castro 1999).

Los escómbridos son dioicos, presentan muy poco o nulo dimorfismo sexual en cuanto a patrones de coloración y morfología, aunque las hembras de algunas especies llegan a ser más grandes que los machos. El desove de muchas especies de esta familia tiene lugar en aguas tropicales y subtropicales frecuentemente cerca de la costa.

Entre las características diagnósticas de la especie se encuentra que el primer arco branquial consta de 26-34 espinas, en algunos especímenes grandes presentan muy larga la segunda aleta dorsal y anal, las cuáles pueden llegar a medir hasta el 20% de la longitud furcal. El hígado en esta especie puede usarse como distintivo al no presentar estriaciones en la superficie ventral. Presenta vejiga natatoria, dieciocho vértebras precaudales y veintiún caudales. La coloración en la espalda es azul metálico oscuro cambiando de amarillo a plateado hacia la zona ventral, esta zona es cruzada por alrededor de veinte líneas discontinuas casi verticales. Las aletas dorsal y anal, así como las aletillas anales y dorsales brillan de color amarillo, teniendo además las aletillas un estrecho borde negro.

Reino: Animalia
Filum: Chordata
Subfilum: Vertebrata
Supercalse: Gnathostomata
Clase: Teleostomi
Subclase: Actinopterygios
Orden: Perciformes
Suborden: Scombroidei
Familia: Scombridae
Subfamilia: Scombrinae
Tribu: Thunnini
Género: Thunnus
Especie Thunnus albacares

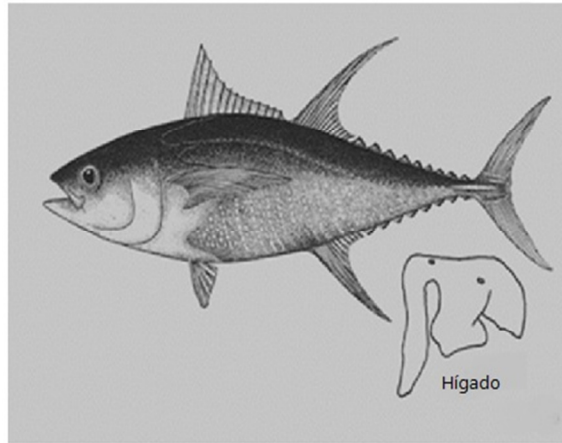


Figura 1- Esquema de la especie *Thunnus albacares*. Fuente: Collette y Nauen 1983 y clasificación según la FAO.

El atún aleta amarilla es conocido también como rabil. Es una especie oceánica epipelágica cuya longitud furcal máxima es de 200cm, aunque comúnmente no se encuentran individuos de más de 150 cm.

En cuanto a hábitos alimenticios, los huevos de la mayoría de los escómbridos son pelágicos, convirtiéndose en larvas planctónicas y posteriormente en activos predadores. Los atunes en general se alimentan de pequeños peces crustáceos y calamares.

Desove y hábitos reproductivos

De acuerdo con datos obtenidos de índices gonadosómicos, estudios histológicos y diámetros de ovocitos, se determinó que el desove del atún aleta amarilla en el Pacífico oriental ocurre durante todo el año (Joseph *et al.*, 1964) con un pico estacional de febrero a junio (Sun, *et al.*, 2005). La amplitud máxima del desove llega a presentarse desde Baja California (26°09' N, 114°08 O) hasta la Punta de Santa Elena en el Ecuador (2°11'S, 81°10'O) (Joseph *et al.*, 1964).

Por su parte, en zonas subtropicales de la zona central y occidental del océano Pacífico algunos autores señalan que el desove ocurre durante todo el año en aguas tropicales aunque de manera estacional. En cuanto a la talla de madurez sexual, ésta fue estimada alrededor de los 107.77 cm para el atún aleta amarilla en el océano Pacífico oriental, correspondiente a la edad estimada de 2.4 años (Sun *et al.*, 2005).

Estos resultados son diferentes a los obtenidos en el estudio de Itano (2000), quién señala que la medida de madurez sexual es menor (98.1cm) para individuos capturados de Filipinas e Indonesia (región occidental) y de alrededor de 112.5 para individuos de la región de Hawái (región central). Estas discrepancias son presumiblemente debido a los diferentes ambientes oceánicos y latitudes, ya que las localidades de la región occidental presentan mayor territorio de masa continental y se encuentran ubicadas más cercana del ecuador, donde la especie alcanza su madurez sexual a más temprana edad (Sun *et al.*, 2005).

Las áreas de desove tienen lugar en las áreas superficiales marinas, donde la temperatura es mayor a 24 °C (FAO, 2012) y parecen ocurrir a lo ancho del Pacífico, limitado hacia el norte y sur por la isoterma de los 26 °C. Existen tres áreas de alta densidad larvaria tentativamente señaladas: zona occidental (130° E -170° E), zona central (180°-160° O) y la zona oriental al este de los 110° (Lehovey *et al.*, 1999), que corresponden a zonas cercanas a islas o continentales.

Algunos estudios sugieren que existen diferentes temporadas para el desove, siendo para la zona oriental de marzo a septiembre mientras que en la occidental de noviembre a abril (Lehodey *et al.*, 1999).

Distribución

El atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) es una especie altamente migratoria que se distribuye en todos los mares tropicales y subtropicales a excepción del mar Mediterráneo desde los 40°N hasta los 35°S (Figura 2).

No obstante, a pesar de que la distribución en el océano Pacífico es casi continúa, la escasa evidencia de migraciones de la especie entre las regiones oriental-occidental o sur-norte sugiere la existencia de subpoblaciones debido al poco intercambio genético (Collette y Nauen 1983).

La evidencia respecto al poco intercambio entre los individuos de atún aleta amarilla pertenecientes a la zona oriental y los de la zona occidental del océano Pacífico consiste tanto de datos genéticos obtenidos (Ward *et al.* 1994) como de marcaje-recaptura (Hampton 2004) (Figura 3).

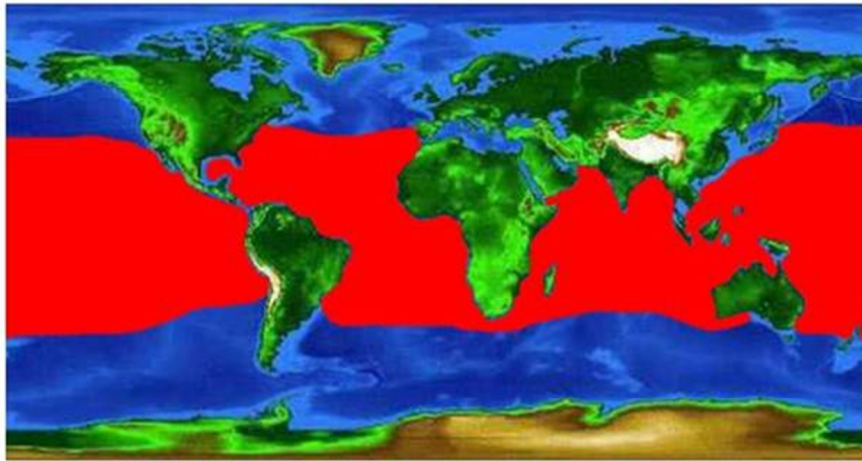


Figura 2– Mapa de Distribución de *Thunnus albacares*. Fuente: Página del Museo de Historia Natural de Florida.

<http://www.flmnh.ufl.edu/fish/gallery/descript/yellowfintuna/yellowfintuna.html>

En cuanto a la distribución vertical, el rango para esta especie se encuentra entre 50-150 m (aproximadamente 15°C) limitada a los 3.5 ml/L de Oxígeno (Graham *et al* 2004).

Esta especie es conocida por ocupar el estrato por encima de la termoclina y se ha fijado su límite fisiológico en temperaturas superiores a 8°C de las capas superficiales. No obstante, un estudio con marcas de archivo, reportó que un solo individuo de atún aleta amarilla llegó a profundidades de más de mil metros con temperaturas de hasta 5.8°C (Dagorn *et al.*, 2006).

Aunque la filopatría en atún aleta amarilla no ha sido totalmente definida, existen estudios que apoyan la idea de que los individuos de esta especie tienden a regresar a los sitios de marcaje (Klimley *et al.*, 1999), lo cual pudiera explicar el hecho de que a pesar de los factores que posibilitan el movimiento de la especie a lo largo de todo el océano Pacífico, etológicamente la especie se restringe a realizar movimientos entre sitios cercanos.

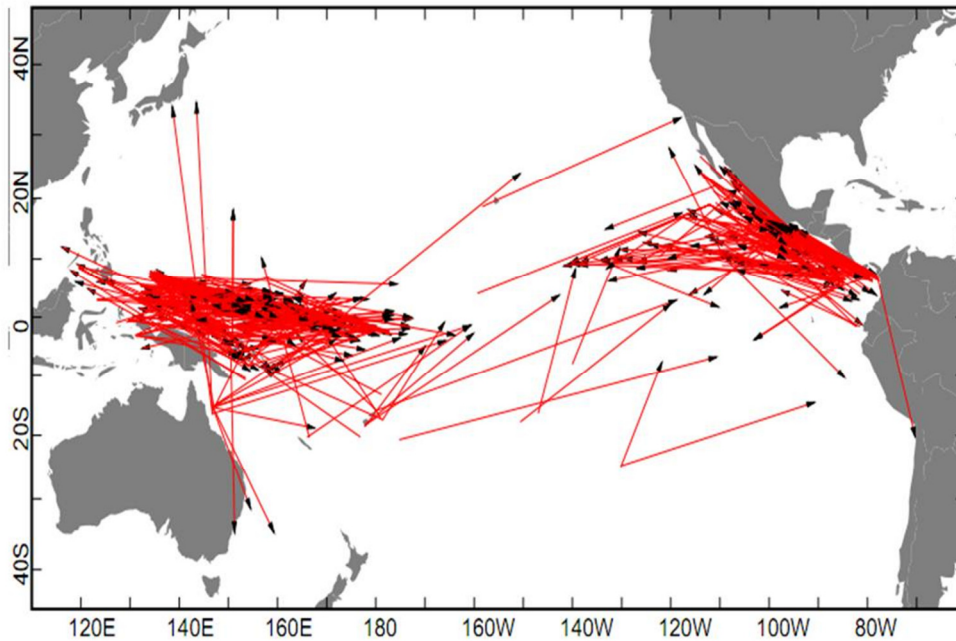


Figura 3- Movimientos registrados del marcaje satelital en atún aleta amarilla. Fuente: Hampton *et al.* 2004

Océano Pacífico

El océano Pacífico constituye la más larga y profunda cuenca del mundo, ocupando más de la tercera parte de la superficie terrestre (Gross *et al.*, 1972, Kennish, 2001) con un área superficial de $166.24 \cdot 10^6 \text{ Km}^2$, volumen de $696.19 \cdot 10^6 \text{ Km}^3$ (ambos sin contar mares adyacentes) y profundidad media de 4,188 m y máxima de 11,022 m (Kennish, 2001).

La circulación superficial del océano Pacífico consiste de un giro en sentido horario en la zona norte y uno antihorario en la zona sur. En la región al norte del Ecuador se encuentran dos corrientes transoceánicas: la corriente ecuatorial del norte y la denominada corriente del

Pacífico norte y sus correspondientes corrientes confluyentes: Kuroshio y California. En el Pacífico sur existe un sistema de corrientes análogo con la corriente ecuatorial sur, la corriente de Perú y la corriente australiana oriental (Figura 4). Otra corriente denominada corriente submarina ecuatorial se encuentra en el Ecuador en profundidades de entre 100-200 metros (Walsh *et al.*, 2008).

En cuanto a la termoclina en el océano Pacífico, está llega a ser hasta cuatro veces más profunda en la zona occidental que en la oriental (Erickson, 2003) lo que confiere una importante diferencia en cuanto al escenario físico para las poblaciones ícticas de las regiones mencionadas.

La barrera del Pacífico oriental, es una extensión de agua profunda, que separa el Pacífico oriental de la región central, es considerada la barrera más ancha del mundo y representa una limitante para el flujo genético en diversas especies de peces, evitando principalmente la migración entre individuos de la zona oriental a la central (Lessios *et al.*, 2006).

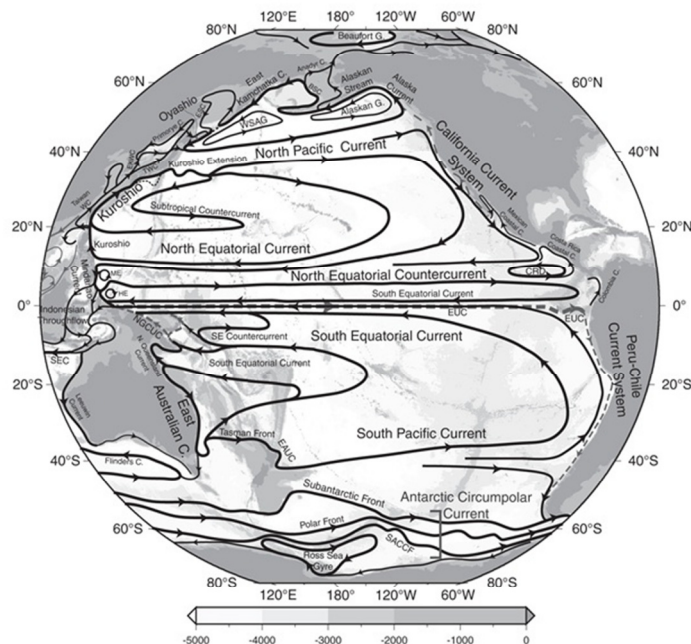


Figura 4. Corrientes superficiales del océano Pacífico. Fuente: [Talley et al. 2011](#)

Aunque las corrientes marinas contribuyen al intercambio genético entre poblaciones, la geomorfología continental y otras características oceanográficas constituyen barreras que promueven el aislamiento y diferenciación en algunas especies. Aunado a esto, debe considerarse que las barreras físicas no son las únicas que deben tomarse en cuenta al intentar dilucidar la estructuración espacial de alguna especie, puesto que ésta se encuentra fuertemente influenciada por factores tales como sus límites fisiológicos a determinadas temperaturas, concentración de salinidad y abundancia de alimento entre otros. Cabe mencionar que dichos rangos de tolerancia son frecuentemente menores para la etapa reproductiva y larvaria que en la etapa adulta (Hauser *et al*, 1998).

Pesca de atún aleta amarilla en el océano Pacífico

El atún aleta amarilla constituye la segunda especie de atún comercialmente más importante por peso de captura (Majkowski, 2007), situándose dentro de las diez especies dominantes de pesca marina a nivel global (Figura 5) (FAO, 2010).

Históricamente, la mayor parte de atunes capturados provienen de la cuenca del Pacífico (Majkowski, 2007) (Figura 6) con cerca del setenta por ciento de las capturas mundiales. Las capturas máximas de atunes en esta cuenca se alcanzaron en el 2008 con más de seis millones de toneladas (FAO, 2010). El atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) junto con el barrilete (*Katsuwonus pelamis*) contribuyen con cerca del 86 por ciento de la captura total en el Pacífico (Majkowski, 2007) (Figura 7).

El atún aleta amarilla es capturado mediante diversos métodos de pesca, incluidas las redes de cerco, el palangre y anzuelo (FAO, 2012). Mediante las redes de cerco, que es un arte ampliamente utilizado, se captura un amplio rango de tallas mientras que las líneas o palangres capturan mayoritariamente especímenes adultos.

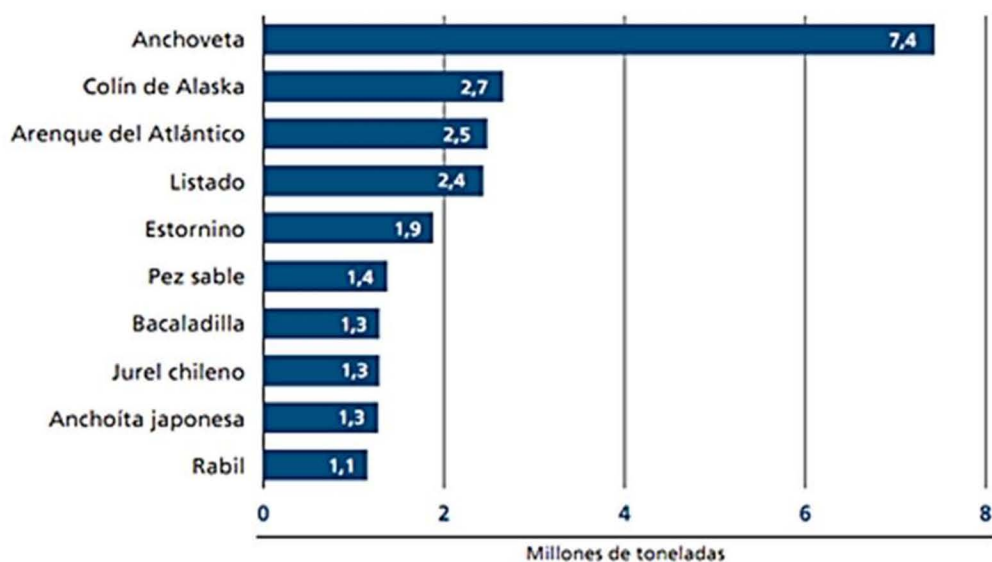


Figura 5- Lista de las diez especies principales en captura marina en el 2008. Encontrándose en la décima posición el atún aleta amarilla o rabil. Fuente: FAO 2010

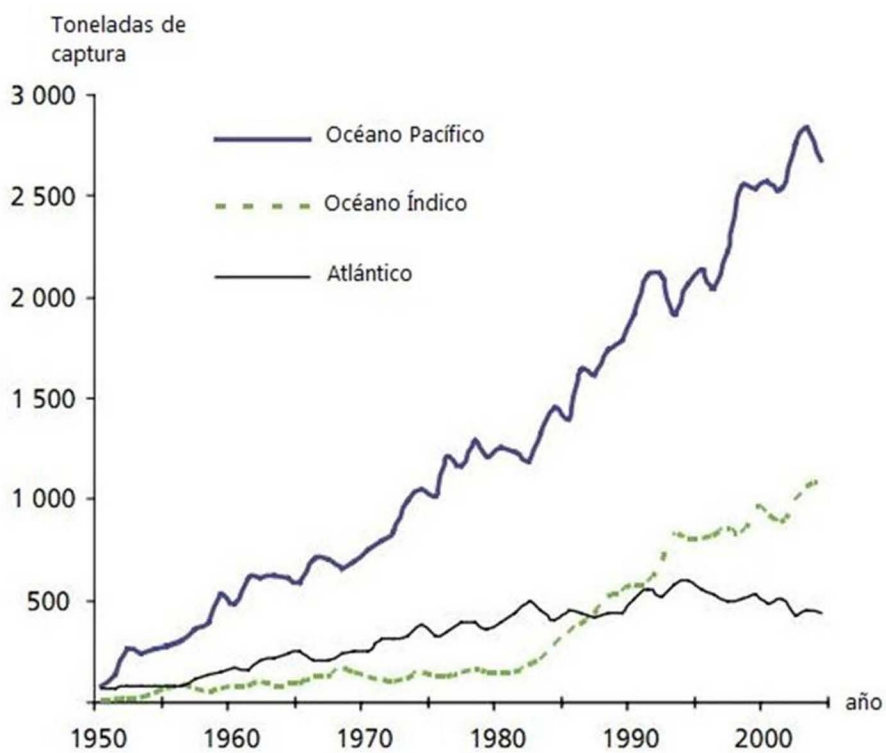


Figura 6- Captura (en toneladas) de las principales especies de atunes por océano. Fuente: [Majkowski, 2007](#)

El enlatado de atún constituye una industria valiosa económicamente, aunque los precios por especie pueden variar considerablemente. Dentro de las especies capturadas para esta, *Thunnus alalunga* ocupa el primer lugar debido al apreciado color blanco de su carne para el mercado, seguida por *Thunnus albacares* y *Katsuwonus pelamis*. A pesar que los precios en sí para atún enlatado son bastante bajos ,hasta de un dólar por Kg., se compensa con el gran volumen de pesca en el caso de *Thunnus albacares* y *Katsuwonus pelamis* (Majkowski, 2007).

La captura del atún aleta amarilla ha ido en aumento durante las últimas décadas y se reconoce la posible existencia de dos diferentes unidades de pesca en el océano Pacífico, pertenecientes a la zona oriental y central-occidental de esta cuenca (FAO, 2012).

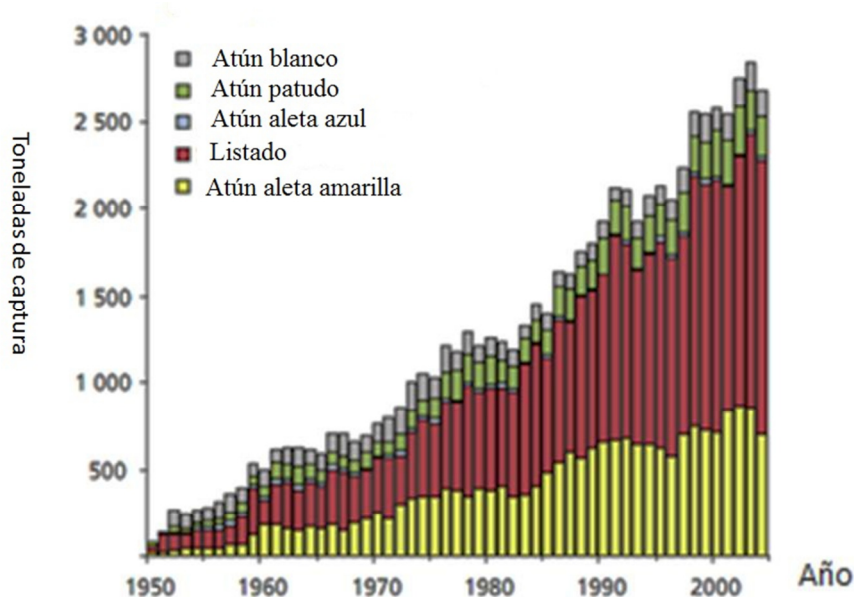


Figura 7- Captura de las principales especies de atunes en el océano Pacífico. Fuente: Majkowski, 2007

La captura por unidad de esfuerzo con palangre ha mostrado diferencias en los volúmenes de captura entre las zonas central-occidental y la oriental del Pacífico, lo que a su vez es consistente con datos de marcaje que demuestran que los movimientos de la especie, cubren sólo cientos de kilómetros, lo que limitaría el intercambio entre individuos de dichas zonas. Se reconoce que las tasas de migración entre el OPO y la región occidental no pueden ser

definidos mediante los métodos de marcaje actual (CIAT, 2010), lo que resalta la importancia del uso de marcadores genéticos.

Pesca de atún aleta amarilla en el Pacífico occidental-central

El atún aleta amarilla es un componente importante de las pesquerías de atunes a lo largo del océano Pacífico occidental-central (OPOC) (Figura 8), siendo capturada mediante una amplia variedad de artes de pesca, tanto a pequeña escala como en las islas del Pacífico como a gran escala en aguas tropicales y ecuatoriales.

Esta especie es mayoritariamente capturada con redes de cerco, entre 2005-2009 el 68 por ciento de las capturas se realizó mediante esta técnica (Figura 9).

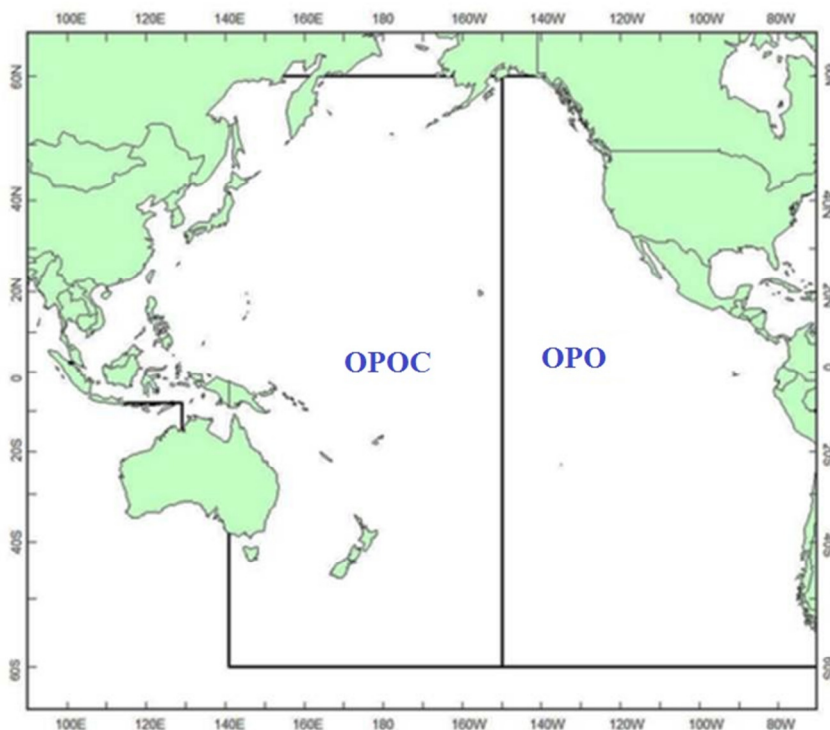


Figura 8– Delimitación de la región del Pacífico central-occidental (al Oeste de los 150° O). Fuente: WCPFC 2011.

La captura anual de la especie en la zona ha aumentado desde 100,000 toneladas métricas (tm) en 1970 a cerca de 550,000 en años recientes, con la excepción del 2008 cuando se capturaron 650, 000 tm en la zona (CIAT, 2011).

Las capturas con palangre en años recientes (70,000-80,000 tm) son relativamente menores a las reportadas de los años setenta y principios de los años ochenta, cuyos valores alcanzaron hasta 110, 000 tm. Aunque en general puede decirse que se ha mantenido estable desde 1970 entre 70,000 y 80,000 tm.

Las pesquerías de Filipinas e Indonesia mediante una gran variedad de técnicas de pesca han incrementado sustancialmente, llegando a representar del 25% al 30% de las capturas totales de *Thunnus albacares* en el OPOC.

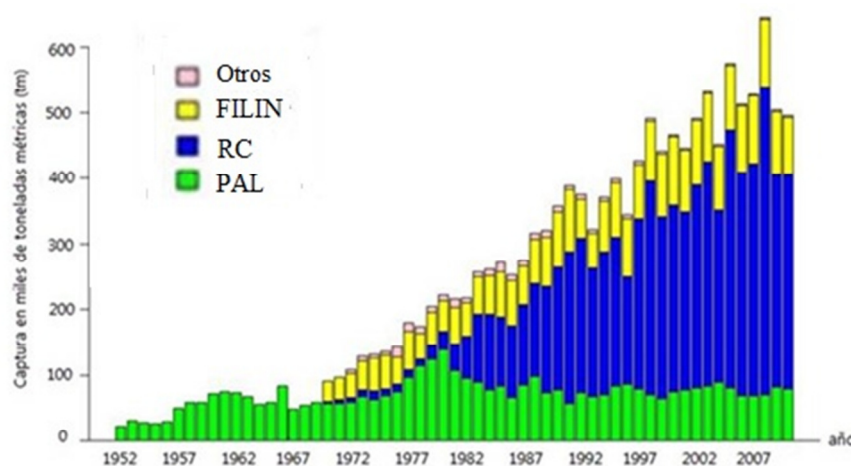


Figura 9- Captura anual total en miles de toneladas métricas (tm) de atún aleta amarilla en la región occidental-central del océano Pacífico, resaltando la pesca con palangre (PAL), red de cerco (RC) y la artesanal de Filipinas e Indonesia (FILIN). Fuente: Langley *et al.*, 2011.

Pesca de atún aleta amarilla en el océano Pacífico oriental

La pesca de atún aleta amarilla en el océano Pacífico oriental (OPO) data de principios de 1900 cuando era capturada principalmente por barcos cañeros, es a partir de 1960 cuando gracias al desarrollo tecnológico, que la red de cerco empieza a ser el principal arte de pesca para esta especie en el OPO lográndose capturas de más del 90% mediante esta

técnica (Essington *et al.*, 2002) (Figura 10) y propiciando a su vez la pesca excesiva de la especie a partir de los sesenta (Joseph *et. al.*, 1964). Actualmente se dispone de reportes ampliamente detallados de la flota *cerquera* y *cañera*, mientras que los datos obtenidos por la flota *palangrera* y flotas menores son incompletos.

El fenómeno de “El Niño” entre los años 1982-1983 causó la considerable disminución en las capturas de atún aleta amarilla, debido a que con el incremento en la profundidad de la termoclina disminuye la vulnerabilidad de las poblaciones, mientras que las capturas en el resto del Pacífico no fueron afectadas. Entre 1997-1998 existió un evento más del Niño con mayor alcance. No obstante, no tuvo los mismos efectos que el anterior en la pesca de la especie. En el año 2002 se estableció récord en la cantidad de captura con 444 mil toneladas, sin embargo en los años 2004, 2005 y 2007 disminuyó sustancialmente. Las capturas durante el 2009 fueron mayores a las ocurridas durante el 2005-2008 pero menor a las del período de 1985 a 2005 (CIAT, 2011).

En el OPO se encuentran frecuentemente mamíferos marinos, especialmente delfines manchados, tornillo y el común, asociados a cardúmenes de atún aleta amarilla. Esto constituye una de las principales preocupaciones de la de pesca de esta especie en el OPO (Figura 11). Antes de 1970, los grupos de estos mamíferos marinos eran utilizados para encontrar grandes grupos de túnidos, obteniendo capturas máximas de *Thunnus albacares* al cercar manadas de delfines, asegurando después la liberación de los mismos, lo que en principio causó la disminución de su población entre 1960 y 1970 (CIAT, 2011). Después de establecer políticas al respecto, la muerte incidental de delfines se ha reducido en 97% desde mediados de los ochenta (Essington *et al.*, 2002). No obstante, cabe señalar que en el año 2003 se presenta el mayor número de lances sobre delfines.

Aunque pudiera pensarse que la asociación entre delfines y túnidos está fuertemente ligada a la alimentación, se ha demostrado que entre el atún aleta amarilla y los delfines tornillo y manchado no existe competencia por alimento siendo el primero diurno y los delfines nocturnos (CIAT, 2011).

Se observó también que las presas más comunes de atún aleta amarilla en individuos que fueron capturados por buques cerqueros en alta mar son las melvas *Auxis* spp., calamares, argonautas (cefalópodos) y peces voladores entre otros peces pelágicos, mientras que los cercanos a la costa como en baja california se alimentaron principalmente de cangrejo rojo (*Pleurocondes planipes*).

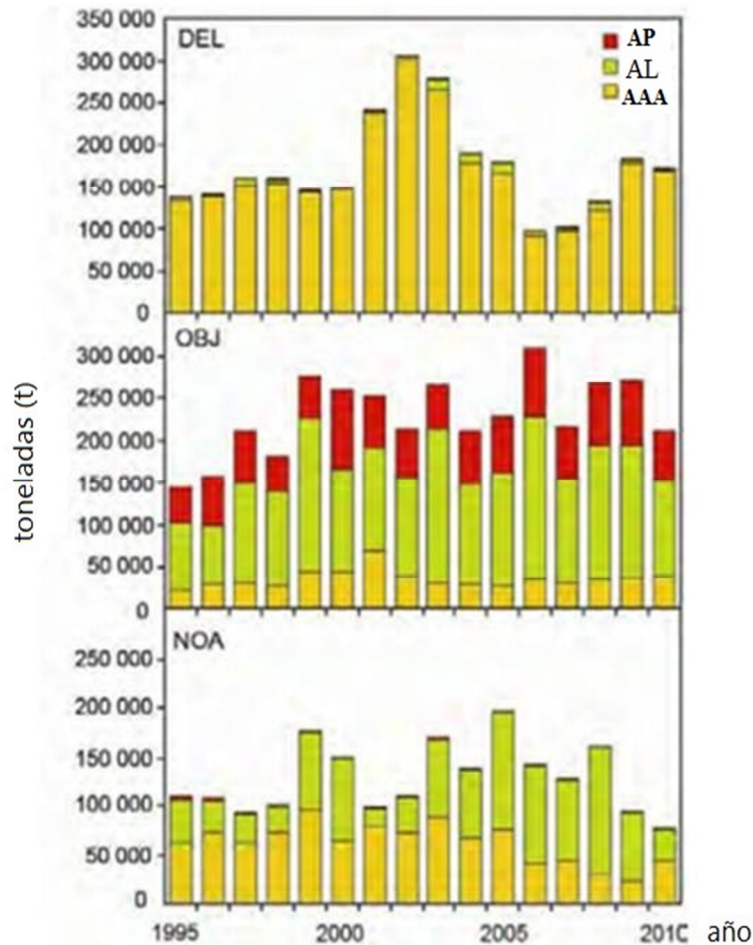


Figura 10- Captura en toneladas por red de cerco de atún patudo (AP), Atún lisado (AL), y Atún aleta amarilla (AAA). Se indica el tipo de lance: asociado a delfin (DEL), asociado a objetos flotantes (OBJ) y no asociados (NOA). Entre 1995 y 2000 en el OPO. Fuente: CIAT, 2011.

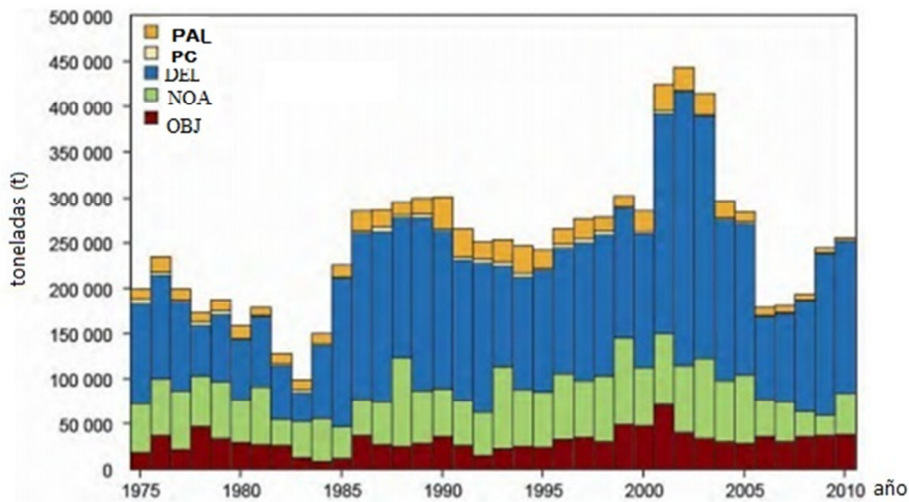


Figura 11- Capturas totales de atún aleta amarilla en las pesquerías de cerco y capturas retenidas de la pesquería de caña (PC) y palangre (PAL) de atún aleta amarilla en el OPO entre 1975-2010 (los datos del 2010 son preliminares) y tipo de lance: DEL= asociado a delfín; OBJ= asociado a objetos flotantes y NOA= peces no asociados. Fuente: CIAT .2011.

Unidades de administración pesquera (*stocks*)¹

Un *stock* puede ser definido desde el punto de vista de la genética de poblaciones como un grupo de individuos de la misma especie que se entrecruzan al azar con integridad espacial y temporal (Ward, 2000). Por otro lado, desde la perspectiva pesquera, puede concebirse como un grupo de peces genética o físicamente identificables, que son aislados y manejados como unidades, y los cuales se reproducen y responden a la pesca como una unidad poblacional independiente con parámetros poblacionales identificables, tales como tasas de crecimiento y mortalidad, así como agregaciones reproductivas únicas (Grant *et al.*, 1999).

Con base en la distribución cosmopolita del atún aleta amarilla se reconocen cuatro UP, pertenecientes al océano Atlántico, Índico y dos al océano Pacífico (oriental y occidental-central). Éstas se encuentran denominados bajo la categoría de completamente explotadas,

¹ Las unidades de pesca o de administración pesquera (UP) son referidas usualmente como *stock* debido a su término en inglés, por lo que a lo largo de este documento será utilizado éste término para hacer referencia a las UP.

con excepción de la UP de la región occidental-central que se considera pudiera estar sobreexplotada (Majkowski, 2007).

Genética en el manejo sustentable de pesquerías

Las características biológicas, tales como tasas de crecimiento, fecundidad e incluso el comportamiento de las especies, son el resultado de numerosos cambios evolutivos que se presentan a lo largo de miles a millones de años de evolución. Puesto que dicho proceso tiene como base la variabilidad genética, la importancia de cuantificarla y conservarla resulta prioritario para cualquier proceso que pueda incidir sobre la misma.

Dentro de las repercusiones que el sector pesquero tiene sobre el ecosistema marino, desde la contaminación hasta la disminución de las poblaciones naturales a causa de la sobrepesca, la pérdida de variación genética en las poblaciones explotadas es un problema poco visible, que por este mismo hecho se ha subestimado, ocasionando la pérdida de valiosos recursos.

Aunque es sumamente difícil evaluar las repercusiones que el sector pesquero puede tener a corto y largo plazo en la constitución genética de las poblaciones, desde el punto de vista evolutivo, la práctica pesquera puede considerarse un tipo de selección artificial. La selección por ejemplo, mayoritariamente de los individuos más grandes, y por ende más fuertes y más fecundos; ocasiona cambios en características tan determinantes para la supervivencia de las especies, tales como el tamaño de primera madurez sexual, comportamiento y fisiología (Cooke *et al.*, 2007).

El uso de tecnologías moleculares en la determinación de la estructura genética en las poblaciones de peces es reconocido desde aproximadamente 1930, aunque sus aplicaciones no se limitan a dicha determinación (Ward, 2000).

La diversidad genética puede ser definida como la variedad de alelos y genotipos presentes en un determinado grupo de estudio. Esta variación que es usualmente generada por mutaciones, les confiere a las poblaciones entre otros aspectos la capacidad de adaptarse a cambios ambientales (Frankham *et al.*, 2010).

Entre las razones principales para la conservación de la diversidad genética, una de las formas de biodiversidad reconocida por la Unión Mundial para la Conservación (IUCN), resalta por una parte, la necesidad para todo proceso evolutivo, de la existencia de diversidad genética, y de la esperada relación entre heterocigosidad y adecuación poblacional (Reed *et al.*, 2003). Por tanto, de los principales objetivos que en la actualidad persigue la genética poblacional, es estudiar, determinar y medir la variación existente entre y dentro de los individuos de una población (Aranguren *et al.*, 2005). Para esto actualmente se cuenta con datos que es posible obtener mediante marcadores moleculares.

Los marcadores moleculares, definidos como proteínas o secuencias polimórficas que sirven como indicadores de la amplia variación en el genoma completo, tienen el potencial de resolver cuestiones ecológicas que de otra manera difícilmente se lograría. Una importante ventaja al utilizarlos es que la variación puede ser cuantificada con gran precisión lo cual provee datos adecuados para comparaciones estadísticas (Beebee *et al.*, 2008).

Al utilizar marcadores moleculares es importante discernir entre las características que los hacen o no favorables para un estudio determinado, entre las características que deben considerarse se encuentran: la abundancia dentro del genoma, el nivel de polimorfismo, especificidad, nivel de dominancia, reproductibilidad, calidad de ADN requerida; así como los costos operacionales y demanda técnica (Spooner *et al.*, 2005). Con base en esto, para el presente estudio se utilizaron los marcadores denominados microsatélites.

Microsatélites

Desde su descubrimiento en el año de 1989, los microsatélites² han tenido gran uso en el estudio de la genética de animales y plantas, reemplazado o complementado a otros marcadores y metodologías genéticas en aplicaciones tanto evolutivas como de

² Los microsatélites también son conocidos como SSR, VNTR o SRT, de sus siglas en inglés: SSR= simple sequence repeats; VNTR= variable number tandem repeat; SRT= short tandem repeat. (Selkoe *et al.* 2006).

conservación de especies, debido a que reúnen los criterios necesarios para ser considerados buenos marcadores moleculares (Aranguren *et al.*, 2005).

Los microsatélites son definidos como segmentos cortos de ADN (de 1-6 pb de longitud) repetidos en tándem (Figura 12) con amplia distribución a lo largo del genoma nuclear de muchos taxones (Selkoe *et al.*, 2006; van Oppen 2000).

Entre las principales características que poseen y por las que son catalogados como marcadores idóneos, se encuentran las de presentar elevado grado de polimorfismo, ser de herencia mendeliana simple y codominantes; son fáciles de medir y analizar, tienen confiabilidad cercana al 100% de ser repetitivos y automatizables (Aranguren *et al.*, 2005). En general son considerados neutrales, altamente polimórficos, que presentan muchos alelos por *locus* y alta heterocigosidad (van Oppen *et al.*, 2000).

Referente a cuestiones técnicas, al basarse en manipulación directa del ADN, es posible lograr su amplificación con poca cantidad de tejido conservado en sustancias simples como etanol, utilizar el ADN de los organismos aún si éste se encuentra con cierto nivel de degradación. Similarmente, la contaminación por ADN de otros organismos se evita al ser estos marcadores específicos (Selkoe *et al.*, 2006).

Teniendo en cuenta la tasa y dirección de la mutación y de la interpretación que se logra a partir de datos obtenidos mediante microsatélites, es posible entre otros aspectos, tener una aproximación del tiempo en que divergieron dos poblaciones, así como medir el grado de flujo genético entre ellas (Ellegren, 2004).

La tasa de mutación por *locus* y generación en los microsatélites se ha llegado a estimar entre 10^{-6} y 10^{-2} , lo que genera un nivel de variabilidad genética suficiente para detectar los posibles procesos que están actuando en una población en escalas de tiempo ecológico, de 10 a 100 generaciones (Selkoe *et al.*, 2006).

No obstante que los marcadores reúnen los criterios para ser considerados como idóneos, se debe considerar que su sensibilidad o poder puede verse afectada por factores como la incertidumbre en el patrón de mutación, los alelos nulos y la homoplasia, siendo éstos la

principal fuente de error en los estudios genéticos donde se utilizan los microsatélites (Aranguren *et al.*, 2005).

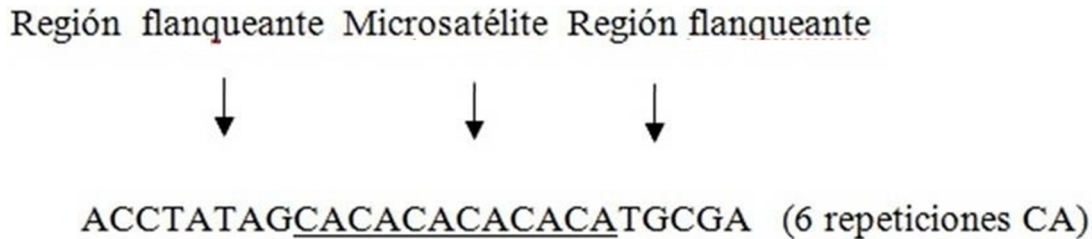


Figura 12- Ejemplo de una región microsatelital. Fuente; Beerli, 2008.

Estructura genética

Los patrones de distribución de la variación genética entre y dentro de las poblaciones es referido como estructura genética poblacional de las especies (Laikre *et al.*, 2005). Esta estructura puede ser definida como la distribución no azarosa de los genotipos en tiempo y espacio (Nunney, 2001) y es un concepto que debiera ser factor clave en el manejo sustentable de los recursos (Laikre *et al.*, 2005).

La estructura genética es una característica de prácticamente todas las poblaciones naturales, que tiene un papel muy importante en cuestiones evolutivas. Dicha estructura es generada por heterogeneidad en las condiciones físicas del ambiente y por las características biológicas propias de las especies, tales como su capacidad de dispersión (Nunney, 2001) y límites fisiológicos.

Estructura poblacional y genética de *Thunnus albacares*

Determinar la estructura poblacional del atún aleta amarilla ha sido objetivo central de diversas investigaciones desde hace algunas décadas dada la importancia comercial de la especie y la necesidad de contar con criterios de tipo evolutivo para su administración.

En el OPO por ejemplo, la preocupación por esclarecer dicha estructura comienza en los años sesenta cuando la pesca de la especie comienza a ser intensiva. En primera instancia se realizaron numerosos marcajes de la especie mediante marcas tradicionales, junto con análisis de datos morfométricos documentados por la Comisión Inter-Americana del atún tropical (CIAT) (Joseph *et al.*, 1964).

En dicho documento se reportan los resultados obtenidos por Blunt y Messersmith en 1960 del marcaje realizado entre el año de 1952 y 1959 de 13,213 especímenes de *Thunnus albacares* en una amplia zona del OPO, recobrándose 263 de los peces marcados en la misma zona de marcaje. En dicho estudio, debido a la falta de recobro de marcas hacia la zona Oeste, se concluye que la unidad de pesca de la zona oriental, es independiente de la perteneciente a la central del Pacífico.

En este mismo reporte se indican los análisis de datos morfométricos de cinco caracteres (longitud de cabeza, primera y segunda aleta dorsal, así como la aleta anal y ventral), realizados por Godsil en 1948 quién examinó 1,911 atunes tomados al norte del Ecuador entre 1936 y 1940 y los comparó con muestras de Perú, Hawái y Japón, encontrando que los individuos capturados en Japón diferían significativamente de los de Ecuador y que los individuos de Hawái se diferenciaban también de las muestras locales (Ecuador) aunque no tan marcadamente como entre las muestras de Ecuador y Japón.

Un estudio posterior realizado por Godsil y Greenhood en 1951 ,continuación de Godsil 1948 con mayor número de muestras, corrobora la evidencia de que los atunes aleta amarilla del Pacífico oriental, muestran diferencias respecto de los individuos capturados hacia la región Oeste e incluso con los individuos del Pacífico central.

Schaefer en 1952 compara datos morfométricos de 203 individuos de la pesquería hawaiana con los previamente publicados de atunes del OPO, concluyendo que dichas poblaciones fueron diferentes en más de los diez caracteres comparados (longitudes de aletas, cabeza y conteo de espinas branquiales entre otras).

De esta forma, la evidencia basada en datos morfométricos y de marcaje-recaptura, muestran heterogeneidad espacial entre los atunes aleta amarilla procedentes de las zonas oriente y occidente del Pacífico y la posibilidad que la zona central constituya una unidad independiente, no obstante, en el estudio se resalta la necesidad de la inclusión información procedente de análisis genéticos para la delimitación correcta de las UP (Joseph *et al.* 1964)

Existen algunos estudios realizados para la determinación de estructura genética del atún aleta amarilla utilizando diferentes marcadores moleculares con diferentes grados de resolución en la medida en que los protocolos de estos se han venido desarrollando.

En un estudio realizado con transferrinas, un tipo de marcador proteico, realizado por Fujino *et al.* 1968, no fue posible encontrar evidencia de heterogeneidad espacial en la frecuencia de los genotipos entre poblaciones del oriente del Pacífico, Hawái y de las Islas de la Línea, ubicadas al sur de Hawái.

Ward *et al.*, (1994) realizaron un estudio sobre la estructura genética del atún aleta amarilla en el océano Pacífico, mediante el análisis de cuatro aloenzimas y fragmentos de restricción del ADN mitocondrial, para estimar la variación existente entre muestras colectadas a lo largo de la cuenca del Pacífico (regiones oriental, central y occidental). Los resultados mostraron heterogeneidad espacial entre las muestras de la región oriental y las tomadas en las zonas central-occidental con una de las cuatro aloenzimas analizadas, la GPI, lo cual motivó a los autores a concluir que dichas diferencias posiblemente corresponden a presiones selectivas en dicho *locus* relacionadas con aspectos adaptativos, más que a una real diferenciación poblacional.

Entre los estudios para determinar la estructura genética de *Thunnus albacares*, cabe resaltar el realizado por Appleyard *et al.*, 2001 dónde mediante cinco *loci* microsatelitales se analizaron poblaciones del océano Pacífico de las regiones oriente (California y México) y occidente (Coral Sea, este de Australia, Islas Fiji, Indonesia e Islas Solomon), incluyendo algunos muestreos temporales. En este análisis, de 1391 individuos, no se reportaron diferencias significativas entre la región Este y Oeste de dicha cuenca oceánica mediante el cálculo del índice de subdivisión poblacional F_{ST} (del término en inglés para estadístico F),

confirmando los resultados previos en aloenzimas y atribuidos a selección. Sin embargo se reportaron diferencias significativas entre algunas poblaciones cercanas de la región occidental.

Como puede observarse, aunque mediante datos morfométricos se ha observado diferenciación entre las distintas regiones del Pacífico, con datos moleculares se han encontrado discrepancias entre estudios realizados, no detectándose incluso diferencias entre océanos, como es el caso del estudio de Scoles *et al.*, (1993), quienes en un análisis realizado con doce enzimas de restricción del DNA mitocondrial, no encontraron diferencias entre muestras de los océanos Pacífico y Atlántico, ni entre las regiones al norte y sur del ecuador en el Pacífico oriental.

Lo anterior puede deberse a las limitaciones propias de los marcadores utilizados, así como a algunas características de la especie, como se discutirá más adelante, que pudieran estar influyendo en el no encontrar diferenciación de las poblaciones del atún aleta amarilla a lo largo océano Pacífico.

Hipótesis

Las frecuencias alélicas de *loci* microsatelitales diferirán de manera significativa entre individuos de atún aleta amarilla pertenecientes a las regiones oriental, central y occidental del océano Pacífico, al presentar esta especie movimientos restringidos y en consecuencia flujo genético limitado, de acuerdo con los datos de marcaje-recaptura, morfométricos y genéticos de estudios previos.

Objetivo

Estimar la variabilidad, divergencia genética y el grado de conectividad de las poblaciones de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en tres diferentes regiones del océano Pacífico, mediante el análisis de siete *loci* de microsatélites, y con base en esta determinar si la estructura genética de la población en la cuenca del Pacífico corresponde a las regiones

occidental, central y oriental con el fin de evaluar la pertinencia de establecer unidades de administración con base en las regiones analizadas.

Objetivos Particulares

- Obtener los genotipos de poblaciones de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) pertenecientes a las regiones occidental, central y oriental del océano Pacífico.
- Obtener las frecuencias alélicas de siete *loci* de microsatélites para cada localidad y evaluar si éstas se distribuyen de manera homogénea entre las regiones propuestas.
- Determinar los niveles de divergencia genética entre las regiones occidental-central y oriental del océano Pacífico mediante un análisis de varianza molecular y del estadístico F_{ST} entre pares de muestras.
- Analizar los niveles de flujo genético entre las regiones occidental-central y oriental del Pacífico.

Metodología

Obtención de muestras

Las localidades consideradas para este estudio pertenecen a tres grandes regiones del océano Pacífico: Taiwán y Filipinas a la región occidental, Hawái a la central, y dos muestreos temporales de Perú y Oaxaca a la región oriental (Figura 13).

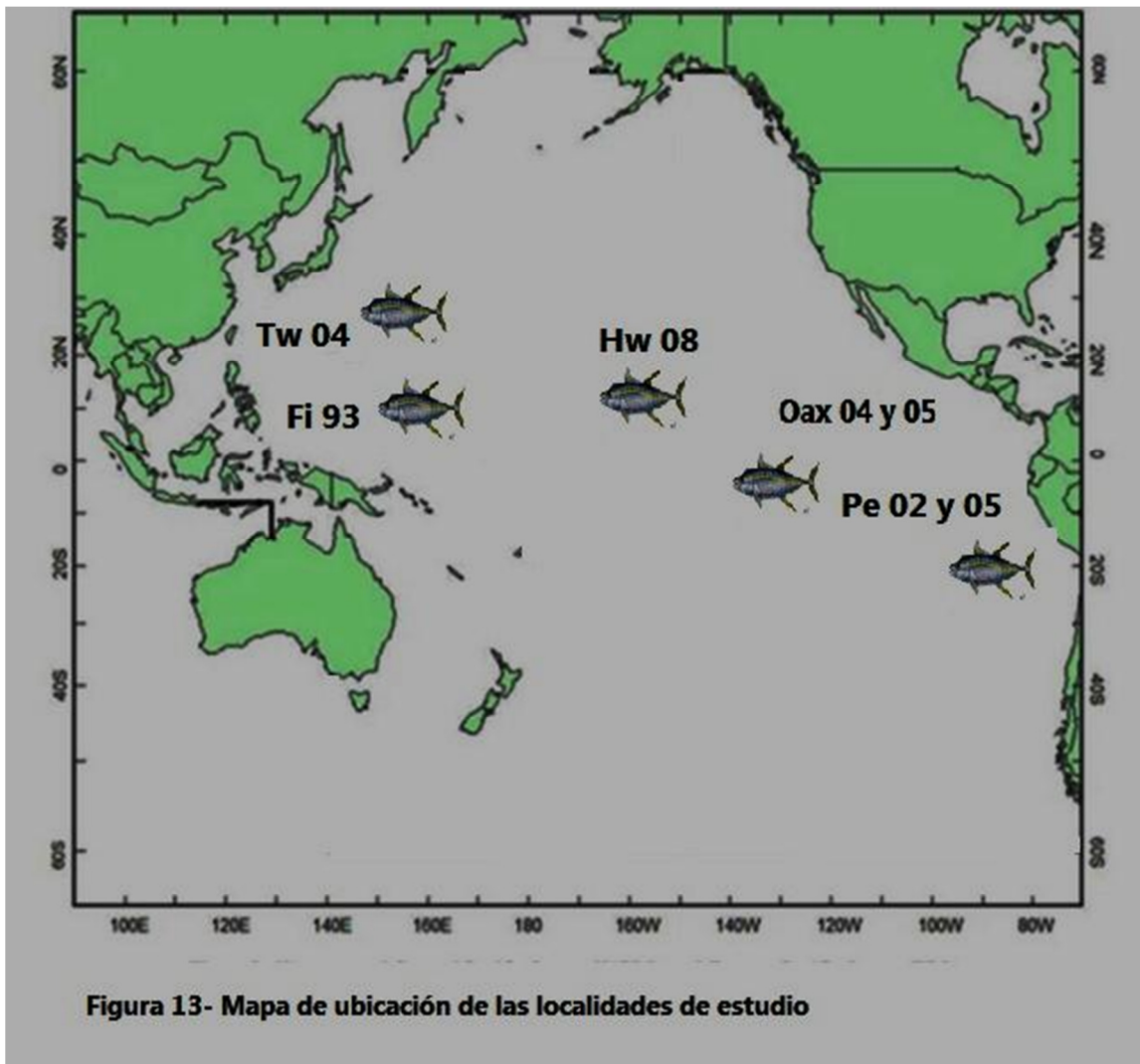
En el laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, se cuenta con una amplia colección de tejido de diferentes organismos acuáticos de importancia comercial, entre los cuales se encuentran los utilizados para esta tesis. Las muestras fueron obtenidas a partir de la pesca comercial y artesanal, como en este caso las de Oaxaca 2004 y 2005, o bien, mediante colaboración con investigadores de los diferentes países en el caso de las muestras obtenidas de Tw04, Perú

2002 y 2005, Fi93 y Hw08). En la tabla 1 se muestran las localidades y el número de individuos analizados.

Tabla 1- Se muestran las localidades utilizadas en este estudio el número de individuos por localidad (n), año de muestreo, la abreviación que será utilizada para referirse a cada una y coordenadas geográficas, las pertenecientes a Filipinas son aproximadas.

<i>Localidad</i>	<i>N</i>	<i>Año de muestreo</i>	<i>Abreviación</i>	
Filipinas	54	1993	Fi93	8.56°N/123.99°E
Taiwán	51	2004	Tw04	18.22°N/122.12°E
Hawái	36	2008	Hw08	18°55'N a 29°N/ 154°40'O a 162°O
Oaxaca	37	2004	Oax04	15.29°N/96.46°O
Oaxaca	50	2005	Oax05	15.24°N/96.34°O
Perú	49	2002	Pe02	17.44°S/80.61°O
Perú	50	2005	Pe05	17.64°S/81.1°O

Para este estudio se incorporó la base de datos obtenida por Morales (2009) correspondiente a los genotipos de cuatro *loci* de microsatélites (Tth5, Tth10, Tth21 y Tth34) de las poblaciones Oaxaca 2004-2005 y Perú 2002-2005, a la que se le sumaron los datos de tres *loci* dinucleótidos (CmrTa 117, 128 y 125)



Extracción de ADN

La extracción del ADN de las muestras se realizó mediante el método de Chris-Lysis reportado por Laird *et al.*, (1991), que básicamente consiste de tres pasos, para más detalles ver Apéndice I:

1. Adición de amortiguador al tejido conservado.
2. Adición de Isopropanol

3. Transferencia del precipitado al amortiguador TE

Amplificación por PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) es la técnica utilizada para la amplificación de fragmentos específicos de ADN, es decir, la obtención de múltiples copias de una región seleccionada del genoma del organismo de estudio. En este caso estas regiones fueron los siete microsatélites estudiados. Cuatro fueron diseñados para el atún aleta azul (*Thunnus thynnus thynnus*) por McDoweel *et al.*, (2002) y tres reportados y aislados para el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) por Grewe *et al.*, (2000), siendo los primeros tetranucleótidos (Tth5, 10, 21 y 34) y los últimos dinucleótidos (CmrTa 117, 208 y 125) (Tabla 2).

Estandarización de las condiciones de PCR

Aunque en principio la finalidad y el procedimiento de la técnica de PCR es igual para cualquier fragmento que se desee amplificar, en los microsatélites factores como la cantidad y calidad del ADN, adecuada temperatura de alineamiento y concentración de los reactivos que conforman la mezcla de reacción, pueden influir en la correcta amplificación y genotipificación de los mismos. Por tanto, fue necesario realizar pruebas con diferentes concentraciones de los reactivos, principalmente de los cebadores y MgCl₂, con la finalidad de encontrar las condiciones óptimas de amplificación para cada *loci* considerado. Lo anterior con el fin de evitar en gran medida repeticiones en el corrimiento de las muestras y asegurando la correcta lectura de los alelos.

Las condiciones finales consistieron en reacciones con volumen total de 10 µL utilizando por cada reacción de 10 a 100 ng de DNA, 20 mM de amortiguador de amplificación 10X (200mM Tris-HCl pH= 8.4, 50mM KCl), 1.5-3 mM MgCl₂, 0.8 mM de mezcla de DNTP'S, 0.25-1 pmol/µl de cebador de inicio (F) y término (R) y 0.025 U de Taq polimerasa (Invitrogen 11615-010).

Para corroborar si se logró la amplificación de los fragmentos de manera adecuada, éstos fueron cargados en geles de poliacrilamida al 6% para ser corridos en una cámara de

electroforesis vertical (SequiGen GT, Biorad) con amortiguador TBE 1X (45 mM Tris-Base, 45 ácido Bórico 1 mM EDTA y H₂O, pH = 8), en cada corrimiento fueron cargados también bandas de tamaño conocido (*ladder*) de 10 y 25 pb para corroborar la amplificación del fragmento adecuado, así como controles positivos de muestras.

Los geles fueron teñidos con nitrato de plata realizando algunas modificaciones al protocolo de Creste *et al.*, 2001.

PCR con cebadores fluorocromados.

Con las condiciones mencionadas, se realizaron nuevamente las amplificaciones utilizando el cebador F marcado con fluorescencia (fluorocromo) para cada *locus*, mismos que fueron sintetizados por la empresa Applied Biosystem[®]. Esto permitió la lectura de las muestras mediante el uso del secuenciador automático para su genotipificación y la optimización del análisis de microsatélites. Mediante el uso de fluorocromos de distinto color para cada *locus*, fue posible analizar en un mismo pozo de la placa que se utiliza para el corrimiento electroforético en el secuenciador múltiples microsatélites, permitiendo diferenciar los genotipos de los diferentes *loci*. Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador marca Eppendorf, con gradiente, de 96 pozos y los programas consistieron del primer paso de desnaturalización a 95°C seguido por 35 ciclos de: 94°C por un minuto, temperatura de alineamiento de 54°C a 61°C dependiendo del microsatélite y temperatura de extensión de 72 °C por un minuto. Finalmente se llevó a cabo una extensión a 72°C por 7 minutos

Genotipificación

Al genotipificar cada *locus* de microsatélite, se determinan los alelos de que consta cada individuo en un determinado *locus*, con el fin de conocer su condición de homocigosis o heterocigosis y poder así estimar la frecuencia de cada genotipo en una muestra de individuos.

Para la genotipificación en este estudio, se utilizó el secuenciador automático 3100 Avant ABI Prism de ocho capilares ubicado en el Instituto de Biología de la UNAM, el cual realiza la electroforesis en capilares que mediante luz de láser permite leer de manera

confiable los alelos de cada muestra detectando la fluorescencia emitida por cada cadena marcada. De acuerdo al rango alélico se agrupó los tetranucleótidos y a los dinucleótidos en grupos diferentes para ser corridos en un mismo pozo capilar. Cada producto de PCR se cargó con mezcla de LIZ500 (banda de tamaño estándar, que se utiliza como parámetro para la determinación del tamaño de los fragmentos analizados) al 5% y formamida al 95%, el volumen total de la mezcla fue de 10µl.

Para obtener los genotipos de cada individuo analizado se utilizó el programa GENEMAPPER 3.7 desarrollado por la empresa Applied Biosystem.

En el caso del cebador Tth21, que por errores de fabricación no se marcó de manera adecuada con el fluorocromo correspondiente, para todas las localidades y de algunos individuos para los otros *loci*, la genotipificación fue hecha mediante la separación de los fragmentos en geles de poliacrilamida al 6% teñidos con nitrato de plata, para lo cual fueron utilizadas muestras de referencia obtenidas en la genotipificación con GENEMAPPER 3.7 realizando la lectura de los genotipos mediante el programa TOTALLAB.

Análisis de datos

Una vez obtenidos los genotipos de los individuos, éstos fueron organizados en tablas de Excel® de tal manera que el programa CONVERT (Glaubitz 2004) y CREATE (Coombs 2011) pudieran reconocer los datos, con la finalidad de poder a partir de estos programas obtener los formatos requeridos para otros programas de análisis tales como GENEPOP (Raymond y Roussette 1995), ARLEQUÍN (Excoffier *et al.*, 2009), STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) y MIGRATE (Berlie 2008).

Se evaluaron las fallas que pudieron ocurrir durante la genotipificación mediante el programa MICROCHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004), ya que este programa permite la identificación de errores debido a alelos nulos, dominancia de alelos pequeños y por *stutter bands* ,(fragmentos de algunas bases menor que el alelo verdadero, generados

por el fenómeno de “tartamudeo” de la polimerasa durante la amplificación) (Liu *et al.*, 2004) así como errores tipográficos.

Equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento

Para cada *locus* se evaluó si las frecuencias genotípicas observadas fueron consistentes con el equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) para cada *locus* y población mediante la prueba exacta de probabilidad implementada en la versión en línea del programa GENEPOP 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995), utilizando los parámetros sugeridos por los autores para este algoritmo (1000 demorizaciones, 100 *batches* y 1000 iteraciones por *batch*³). Se realizaron también las pruebas para evaluar el exceso y déficit de heterocigos. De la misma forma, se realizaron pruebas de desequilibrio de ligamiento mediante comparaciones pareadas entre los diferentes *loci*.

Los resultados fueron corroborados con el programa ARLEQUÍN 3.5, el cual utiliza un método análogo a la prueba exacta de Fisher, en el que extiende a diferencia de éste la tabla de contingencia a un tamaño arbitrario (Excoffier *et al.*, 2009). Al ser comparados los resultados de ambos programas no se encontraron diferencias. Los reportados en este documento son los obtenidos mediante GENEPOP 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995).

Diversidad genética

Se calcularon diversos estimadores de diversidad genética: número de alelos (N_a), número efectivo de alelos (N_e), riqueza alélica (R), heterocigosis esperada (H_e), heterocigosis observada (H_o), mediante los programas de cómputo ARLEQUÍN (Excoffier *et al.*, 2005), GENEPOP 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995) y FSTAT (Goudet, 2002).

A continuación se definen los estimadores de diversidad genética utilizados:

Riqueza alélica: es el número de alelos por *locus*. Esta es una medida sensitiva a la pérdida de variación genética debido al tamaño de muestra (Allendorf *et al.*, 2009).

³ *Batch* (es), es el término en inglés para los procesamientos por lote.

Número efectivo de alelos: es el número de alelos que con misma frecuencia resultan en la heterocigosis u homocigosis observada (Allendorf *et al.*, 2009).

Heterocigocidad: es la medida más ampliamente utilizada para caracterizar la diversidad genética. La heterocigocidad observada (H_o) se refiere al número de heterocigos observados en un *locus*, dividido por el número total de individuos muestreados, mientras que la heterocigocidad esperada (H_e) corresponde a la que se esperaría si la población se encuentra en equilibrio de H-W y es calculada mediante la expresión $2pq$ para un *locus* con dos alelos (donde p y q son las frecuencias de cada uno de los alelos), siendo esta última menos sensitiva al tamaño de muestra que H_o (Frankham *et al.*, 2010).

Tabla 2 – Cebadores utilizados: secuencia, rango alélico reportado y observado * y la temperatura de alineamiento que se usó para la amplificación de cada uno de los microsatélites.

Microsatélite	Secuencia (5'-3')	Temperatura de alineamiento	Rango alélico (pb)
CmrTa 117	F: TCA CAG CAT GGG ACA AC R: ATA GTG AAA TGA TTA GAA CAG TGC	54°C	150-220 (164-194)*
CmrTa 208	F: CAC AAA CTT CCT CCT AAA CCG ATC ATG R: GAT GTA TGG AAA GCA GGG GAC TG	54°C	135-153 (138-146)*
CmrTa 125	F: TTG GGC TGC CTG ATG AAG R: GTG TCT CTG AAA TGA TGG AAA CA	54°C	148-176 (159-169)*
Tth 5	R: TGG GAG TGG AGA ATG ACA GGA GAG	56°C	108-144 (110-142)*
Tth 10	F: GCT GAG CAC GCA TTT ACT GTA G R: CGT CAC AAC CTT CCA ACT CG	55°C	112-124 (110-122)*
Tth 21	F: GAC AGA GAG ACA GAG AGA AGG GGA GGA CA R: CAC AGA GTT GAT AAC AGC GGC AG	61°C	120-140 (119-135)*
Tth 34	F: GAT GCC ATT TCT CTG TCT ATC TG R: AAG CCG TTC CCT CAG TGT C	58°C	88-148 (88- 148)*

Diferenciación poblacional

Uno de los problemas al aplicar microsatélites para la identificación de UP en peces es la incertidumbre acerca de la manera en que estas regiones genómicas mutan y generan variación genética, esto es el modelo mutacional que los rige (Carvalho 1998).

Los estadísticos de F (F_{ST}), desarrollados por Wright en 1951 son los más utilizados para la evaluación de diferenciación genética entre poblaciones. No obstante, este parámetro no siempre es el más adecuado cuando se utilizan marcadores con alta variación genética como los microsatélites, recomendándose para algunos *loci* el parámetro análogo conocido con R_{ST} , desarrollado por Slatkin en 1995, el cual a diferencia del modelo mutacional de alelos infinitos utilizado para el cálculo de F_{ST} , asume el modelo denominado por pasos, que es presumiblemente más realista para datos de microsatélites (Freeland *et al.*, 2011) evitando los efectos de homoplasia atribuidos a dichos marcadores.

El parámetro R_{ST} al tomar en cuenta la longitud de los fragmentos utilizados (Allendorf *et al.*, 2009) y asumir el modelo mutacional por pasos es considerado más informativo al utilizar microsatélites (Carvalho 1998).

Es por esto que se realizó el análisis con el programa SpaGedi 1.2 (Hardy y Vekemans 2002), que evalúa la hipótesis nula de que las diferencias en el tamaño de los alelos no contribuyen a la diferencia poblacional encontrada. Esto para discernir cuál de las dos medidas de subdivisión poblacional es la más adecuada para los datos obtenidos en esta tesis en particular.

Después de evaluar ambos modelos, se estimó que el grado de diferenciación genética que mejor explica las diferencias entre pares de poblaciones es el estadístico F_{ST} mismo que se obtuvo utilizando el paquete FSTAT (Goudet, 2002).

De la misma forma y con el fin de evaluar la diferenciación con base en la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas, se realizaron pruebas exactas entre pares de poblaciones, de diferenciación génica y genotípica en GENEPOP 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995), asumiendo una misma distribución entre las poblaciones de alelos en el

primer caso y genotipos en el segundo, utilizando los parámetros para Cadenas de Markov de 1000 demorizaciones, 100 *batches* y 1000 iteraciones por *batch*.

Análisis de Varianza Molecular

Debido a que la variación genética puede estar particionada en diferentes niveles jerárquicos, esta subestructura es regularmente cuantificada mediante la formación de grupos de poblaciones realizando el análisis de varianza molecular (AMOVA) descrito por Excoffier *et al.*, 1992 (Allendorf *et al.*, 2009).

El AMOVA constituye un método viable para estimar la diferenciación poblacional al utilizar marcadores moleculares (Gupta, 2007), evaluando los niveles de variación entre grupos (F_{CT}), entre las poblaciones dentro de los grupos (F_{SC}) y entre individuos dentro de las poblaciones (F_{ST}).

Este análisis se llevó a cabo mediante el programa ARLEQUÍN 3.5 (Excoffier *et al.*, 2009), agrupando los datos de acuerdo a la región geográfica correspondiente en el Pacífico conformándose diferentes grupos para maximizar la varianza de la variabilidad genética en niveles jerárquicos y con el fin de detectar el mayor nivel de divergencia genética relacionado con la distribución espacial de las muestras.

De esta forma, se realizaron siete pruebas agrupando a las poblaciones con base en las diferencias observadas de las comparaciones entre pares de muestras mediante la F_{ST} y de la heterogeneidad de frecuencias y considerando la separación espacial de las localidades estudiadas. Las diferentes pruebas de AMOVA se detallan en el apéndice II.

Para todos los casos se utilizaron 10,000 permutaciones.

Estructura genética

Con el fin de dar sustento adicional al agrupamiento de las muestras para los AMOVA se infirió la existencia del número más probable de k poblaciones genéticamente diferenciadas mediante el programa STRUCTURE 2.2 (Pritchard *et al.*, 2000) que maximiza la variabilidad genética encontrada para detectar la existencia de estructura genética y verifica

la probabilidad del número más probable de poblaciones/grupos, mediante una aproximación bayesiana.

Se realizaron corrimientos independientes de prueba utilizando algunas combinaciones de los parámetros manejados en el programa: en cuanto a los modelos de ancestría, se probó tanto el modelo que asume mezcla, como el que no asume mezcla ancestral entre los individuos de las diferentes poblaciones junto con el modelo de frecuencias alélicas correlacionadas. Cada uno de estos modelos se corrió en combinación con diferentes valores de longitud de *burn-in*⁴ y cadenas de Markov (10000, 20000, 50000 y 100000). Estos rangos son considerados adecuados para la correcta estimación de los parámetros medidos (Pritchard *et al.*, 2000). En todos los casos se utilizaron cinco iteraciones.

Como se recomienda para en el programa STRUCTURE, para determinar la estructura genética, se utilizó en primera instancia el modelo que asume cierto grado de mezcla ancestral entre las poblaciones dado que ésta es una característica común en las poblaciones naturales. No obstante, con este modelo no fue posible detectar estructuración génica en ningún corrimiento. Por otro lado, asumiendo la falta de mezcla ancestral entre las poblaciones (modelo sin mezcla) se detectó la existencia de dos poblaciones genéticamente independientes con los datos analizados.

Este modelo se considera más apropiado para el análisis de poblaciones completamente discretas y usualmente es una herramienta más poderosa para la detección de estructura genética cuando ésta es demasiado sutil (Pritchard *et al.*, 2000) como suele ser el caso en organismos marinos altamente migratorios (Waples, 1998) como el atún aleta amarilla.

Al encontrarse que el valor mayor de probabilidad para k fue 2 al utilizar el modelo que no asume mezcla entre las poblaciones, y que los valores de longitud de *burn-in* y cadenas de Markov no influían en los resultados, se realizó un análisis utilizando el modelo

⁴ El término *Burn-in* (periodo de calentamiento) hace referencia al número de iteraciones que no serán consideradas durante la estimación.

mencionado con longitud de 100,000 de *burn-in* y cadenas de Markov y 30 iteraciones para evaluar los valores de probabilidad para k (número de poblaciones) de 1 a 10.

Posteriormente se realizó un análisis agrupando a las poblaciones de acuerdo a su ubicación geográfica en región oriental, central y occidental, probándose k en un intervalo de 1-5.

Un segundo corrimiento se realizó excluyendo a la zona central, comparando por lo tanto a la región oriental y occidental, probándose $k= 1-3$ con 30 iteraciones y 10 000 cadenas de Markov y *burn-in* en ambos casos. Con este agrupamiento se pretende comparar a la región occidental con la oriental, de manera que sea un análisis comparativo con el AMOVA y detectar a las dos poblaciones genéticamente diferenciadas que identificó el programa.

Finalmente, de la misma manera que para los AMOVA, se agrupó a la región occidental, con la central y se comparó con la oriental.

Los resultados obtenidos fueron corridos en la versión en línea de STRUCTURE HARVESTER (Dent *et al.*, 2011), el cual es un programa que procesa los resultados de STRUCTURE y permite la eficiente visualización de los valores obtenidos además de determinar el número de poblaciones más probable mediante el método de Evanno *et al.*, (2005), el cual considera la variación generada por el error de muestreo.

Con la finalidad de discernir las poblaciones genéticamente diferenciadas que reconocía el programa, se realizaron más corrimientos, agrupando a las poblaciones de diferentes formas. De tal manera que se compararon por separado tanto la región oriental como la occidental con la central, la región oriental sur y occidental, la región oriental norte y occidental. Para estos análisis se utilizaron 5 iteraciones y 10,000 cadenas de Markov y *burn-in*.

Análisis de Componentes Principales.

El análisis de componentes principales (ACP o PCA en inglés) es una herramienta estadística de síntesis o reducción de la información (reducción de variables), sin que esto suponga una pérdida sustancial de la misma. En genética de poblaciones se utiliza para

determinar las relaciones genéticas en el espacio de las poblaciones, especies o individuos estudiados (Gonzales 2008).

El ACP es una manera muy simple de evaluar estructura genética entre las poblaciones, ayudando a identificar grupos de poblaciones e individuos (Höglund, 2009).

Para este análisis se utilizó el programa PCAGEN 1.2 (Goudet, 2004); el cual usa las frecuencias alélicas para definir nuevas variables (componentes) que resuman la varianza entre las poblaciones, ejecutando permutaciones para evaluar la significancia de cada componente (Burg *et al.*, 2005). Se utilizaron 5000 aleatorizaciones.

Flujo génico y Tamaño efectivo poblacional (N_e)

La magnitud del flujo genético, es un parámetro importante de determinar debido a que de esto depende el grado en que la población de una determinada especie se constituye como una unidad evolutiva independiente de otra. Su estimación es relevante en conservación, ya que en caso de que el recurso sea sobreexplotado en alguna región en particular, es posible que ésta sea rehabilitada mediante el flujo de poblaciones aledañas (Waples, 1998).

El número de migrantes efectivos o migrantes por generación (N_m) es una media útil para estimar el grado de flujo génico que existe entre poblaciones, el cual resulta de multiplicar la tasa de migración m con el tamaño efectivo poblacional ($N_m = N_e * m$). Si N_m es mayor a uno, teóricamente previene la diferenciación local y en el caso de ser menor a uno se considera que la deriva génica actúa de manera independiente en cada localidad (Piñero *et al.*, 2008).

El tamaño efectivo poblacional, puede ser definido de manera sencilla como los individuos dentro de una población que dejarán descendencia o desde el punto de vista genético como la fracción de la población que heredará genes a las futuras generaciones.

Para determinar el tamaño efectivo poblacional (N_e) y el número de migrantes (N_m) entre las localidades, se utilizó el programa de cómputo MIGRATE (Beerli, 2008). Para la estimación del primer parámetro este programa calcula para cada población el valor de Θ ,

que es relacionado con la tasa de mutación μ del marcador molecular analizado (en este caso microsatélites), mediante la fórmula: $\Theta=4Ne\mu$. De la misma manera, para determinar Nm se estima el valor de M que se relaciona con la tasa de mutación y los valores de Θ mediante las siguientes fórmulas: $m=M/\mu$ y Nm (número de migrantes)= $\Theta M/4$, en este caso se utiliza la Θ promedio de todas las poblaciones. Fue considerada la tasa de mutación (μ) igual a $1*10^{-4}$.

Como se mencionó anteriormente la tasa mutacional de los microsatélites es un parámetro difícil de generalizar, debido a que en gran medida depende del tipo de microsatélite utilizado, llegándose a estimar entre los 10^{-2} y 10^{-6} por *locus* por generación (Selkoe *et al.*, 2006), debido a que en estudios anteriores para diversas especies de túnidos o donde se han utilizado los mismos marcadores que para este estudio se ha considerado una tasa mutacional de 10^{-4} , fue considerado este valor para el presente análisis (Qiu *et al.*, 2011, Gonzalez *et al.*, 2008)

Se realizaron cinco corrimientos independientes haciendo análisis bayesiano, utilizando el modelo Browniano para microsatélites, considerando una tasa de mutación constante para todos los *loci* empleados, *burn-in* de 10000 árboles y una cadena larga de 5000 genealogías con muestreo cada 100 árboles y *heating* igual a 4.

Poder estadístico

El poder estadístico es definido por Hedrick 2000 y Frankham *et al.*, 2010 como la probabilidad o habilidad de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es falsa. Esto puede verse influido entre otros factores por el número de poblaciones, de individuos por población y *loci* muestreados (Allendorf *et al.*, 2009), por lo que para poder identificar de manera confiable una determinada hipótesis es importante determinar el poder estadístico de el análisis dadas ciertas condiciones.

Se utilizó el programa POWSIM (Ryman y Palm 2006) el cual mediante simulaciones de diferentes combinaciones de tamaño de muestra, número de *loci* y alelos por *locus*, evalúa el poder estadístico de las pruebas de X^2 y Fisher al probar la hipótesis nula de

homogeneidad genética y determina el valor de F_{ST} dado un tamaño efectivo poblacional (N_e) y tiempo generacional, utilizando la fórmula $F_{ST}=1-(1-1/2N_e)^t$.

Se asumieron tres tamaños efectivos poblacionales (N_e), que fueron calculados por los diferentes autores, asumiendo en todos los casos una tasa mutacional de 10^{-4} ; el primero es el reportado para el atún patudo (*Thunnus obesus*) en el océano Pacífico por Gonzales *et al.*, (2008) ($N_e=4,175$), el segundo por Morales (2009) ($N_e=12,331$) para atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y el tercero ($N_e=200$) es el calculado en este análisis para la misma especie; las estimaciones se realizaron utilizando 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 y 5000 tiempos generacionales con 500 corrimientos de cada prueba.

Del mismo modo se estimó la probabilidad de rechazar la hipótesis nula (H_0) cuando ésta es verdadera (Error estadístico I), con este mismo programa, asumiendo para este caso $t=0$ y los tamaños efectivos ya mencionados.

Resultados

La prueba realizada en MICROCHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004) , reveló que en ningún *locus* de las poblaciones analizadas se presentaron probabilidades significativas de alelos nulos, dominancia de alelos pequeños o stutter bands ($p<0.01$) por lo cual se prosiguió con los análisis subsecuentes.

Equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento

La prueba de ajuste al equilibrio de H-W mostró a algunos *loci* con desviaciones significativas ($P<0.05$), siendo Oax04 la que mayor número presentó (Tth10: $P=0.0148$; Tth34: $P=0.0005$ y CmrTa117: $P=0.0232$), seguida por Tw04 y Fi93 con dos *loci* fuera del equilibrio (CmrTa117: $P=0.0062$, 0.0053 y Tth34: $P=0.0158$, 0.0046 respectivamente) y por Pe02 únicamente para un *locus* (CmrTa208: $P=0.0134$).

Al realizar la prueba para exceso de heterocigos resultaron valores significativos para el *locus* Tth10 en las localidades Tw04 ($P=0.0289$) y Oax05 ($P=0.0235$). Por su parte las pruebas para determinar la presencia de déficit de heterocigos fueron significativas para el *locus* CmrTa 117 en las localidades Hw08 ($P=0.0143$) y Fi93 ($P=0.033$), el CmrTa 208 en Pe05 ($P=0.0289$), el CmrTa 125 en Oax05 ($P=0.0414$) y por último para el *locus* Tth 34 Pe02 ($P=0.0219$), Oax04 ($P=0.0187$) y Fi93 ($P=0.0089$).

En cuanto a la prueba de desequilibrio de ligamiento se encontró que el *loci* 125 está ligado al *loci* 208 ($P=0.037$), por lo que los resultados para estos *loci* pudieran verse influenciados por su interacción. Cabe destacar que a pesar de la significancia de dichos valores, la mayoría de estos no lo serían de aplicarse la corrección al nivel de significancia para pruebas simultáneas (Rice 1987). Más adelante se discute acerca de las ventajas y desventajas de su aplicación.

Evaluación de diversidad genética

Como puede observarse en la tabla 3, N_a por *locus* se ubicó en un rango entre 3 y 14 para todos los *loci*, siendo el valor menor de 5.57 para la población de Hw08 y el mayor de 7.14 en las poblaciones Pe02 y Fi93. El valor promedio por *loci* y población fue de 6.63.

En cuanto a N_e , los valores se encontraron entre 2.753 para Hw08 y 3.456 para Oax05, siendo el valor promedio por *locus* y población igual a 3.12. Respecto a las medias para la riqueza alélica, éstas variaron en un rango entre 5.21 para Hw08, Tw04 y Pe05 a 10.36 correspondiente a Fi93, con un promedio por *locus* y población igual a 6.53.

El promedio más bajo para H_e la presentó Oax04 (0.539) mientras que Oax05 tuvo el más alto (0.589). Respecto a H_o , el promedio más alto fue para Tw04 con 0.576 y el más bajo para Fi93= 0.495. Como puede observarse, no hubo mucha variación entre las poblaciones con respecto a estos parámetros (H_o y H_e). El promedio global de H_o resultó de 0.549. Al comparar los valores obtenidos de H_o y H_e , la localidad que presentó mayor diferencia fue Fi93, mientras que las demás presentan valores bastante similares para ambos estimadores (Figura 15).

Los valores estimados señalan a Hw08 como la de menor diversidad genética y a Fi93 como una

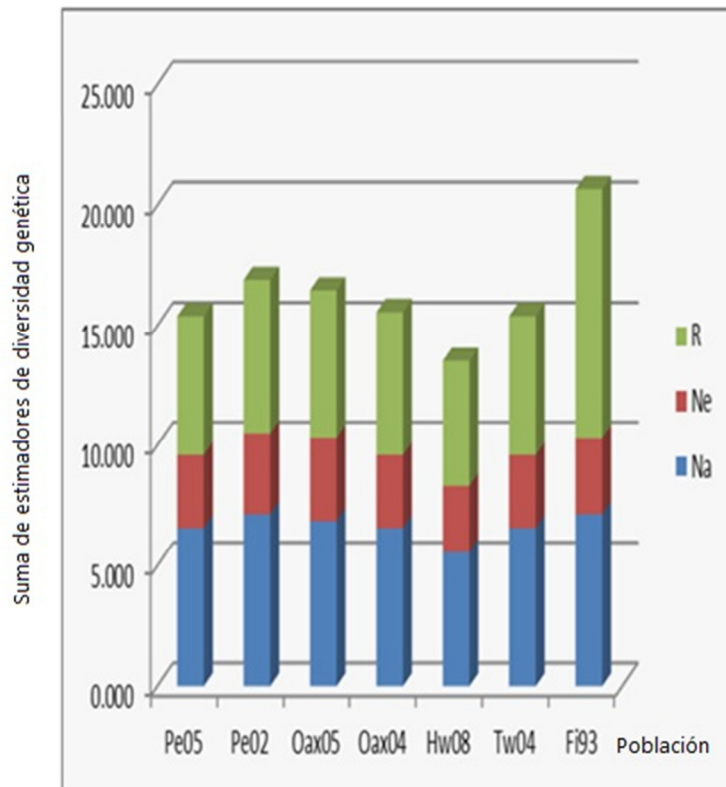


Figura 14-Gráfica de diversidad genética por población. Riqueza alélica (R), Número efectivo de alelos (Ne) y Número de alelos (Na).

localidad con apreciable diversidad genética. Mientras que las poblaciones restantes presentan valores similares para la mayoría de los parámetros estimados (Figura 14).

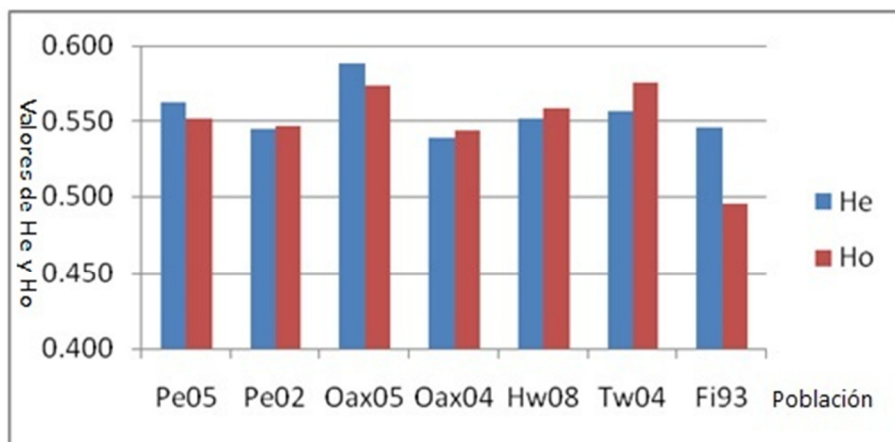


Figura 15- Gráfica que muestra comparativamente los valores de la Heterocigosis esperada (He) y la Heterocigosis observada (Ho) por población.

Tabla 3- Estimados de diversidad genética, se indica para cada *locus* y localidad: número de individuos (N), número de alelos (Na), riqueza alélica (R), heterocigosidad esperada (He) y heterocigosidad observada (Ho). Se resaltan con negritas las desviaciones a H-W ($P < 0.05$)

		Tth5	Tth10	Tth21	Tth34	CmrTal17	CmrTa208	CmrTal25	Promedio
Oax04	N	34	34	34	32	26	30	30	31.43
	Na	6	4	3	11	11	5	6	6.57
	Ne	2.766	1.469	1.272	5.491	6.595	1.638	1.935	3.024
	R	5.352	3.353	2.967	9.980	10.527	4.531	5.067	5.97
	He	0.64794	0.32397	0.21730	0.83085	0.86501	0.39605	0.49153	0.53895
	Ho	0.70588	0.35294	0.23529	0.90625	0.76923	0.33333	0.50000	0.54328
Oax05	N	42	42	40	41	35	38	33	38.71
	Na	8	3	3	11	14	4	5	6.86
	Ne	2.382	1.697	1.774	5.737	8.877	1.850	1.878	3.456
	R	6.400	2.984	3.0000	9.911	12.611	3.847	4.305	6.15
	He	0.58721	0.41566	0.44177	0.83589	0.90021	0.46561	0.47459	0.58871
	Ho	0.61905	0.52381	0.37500	0.75610	0.88571	0.052632	0.33333	0.57419
Pe02	N	38	38	38	38	27	27	35	34.43
	Na	8	3	5	13	12	6	3	7.14
	Ne	2.067	1.375	1.661	6.446	8.284	2.260	1.406	3.357
	R	6.361	2.847	4.562	11.015	11.516	5.813	2.657	6.4
	He	0.52316	0.27649	0.40316	0.85614	0.89588	0.56813	0.29275	0.54510
	Ho	0.42105	0.31579	0.44737	0.81579	0.92593	0.55556	0.34286	0.54633
Pe05	N	42	42	41	41	37	35	37	39.29
	Na	7	3	3	12	12	5	4	6.57
	Ne	2.058	1.562	1.539	5.414	6.630	2.050	1.931	3.026
	R	5.880	2.798	2.999	9.812	11.197	4.645	3.243	5.8
	He	0.52037	0.36403	0.35441	0.82535	0.86079	0.51967	0.48871	0.56190
	Ho	0.52381	0.35714	0.31707	0.85366	0.86486	0.42857	0.51351	0.55123
Hw08	N	35	35	35	32	31	31	23	31.71
	Na	7	4	3	9	9	4	3	5.57
	Ne	2.669	1.787	1.511	4.725	5.251	1.611	1.715	2.753
	R	6.082	3.646	2.996	8.392	8.402	3.970	3.0000	5.21
	He	0.63437	0.44679	0.34327	0.80208	0.82285	0.38551	0.42609	0.55157
	Ho	0.54286	0.51429	0.40000	0.84375	0.67742	0.45161	0.47826	0.55831
Tw04	N	42	38	39	41	39	39	34	38.86
	Na	6	3	3	12	12	5	5	6.57
	Ne	2.645	1.695	1.169	5.521	6.060	2.279	1.822	3.027
	R	5.477	2.979	2.810	9.638	10.533	4.769	4.474	5.81
	He	0.62937	0.41544	0.14652	0.82897	0.84582	0.56843	0.45786	0.55606
	Ho	0.69048	0.52632	0.15385	0.80488	0.76923	0.61538	0.47059	0.57582
Fi93	N	32	41	37	41	31	41	37	37.14
	Na	5	3	6	13	11	7	5	7.14
	Ne	2.599	1.510	1.329	5.909	7.253	2.017	1.578	3.1707
	R	4.54	3.810	10.816	30.029	10.090	6.539	6.694	10.36
	He	0.62471	0.34165	0.25102	0.84101	0.87626	0.51039	0.37128	0.54519
	Ho	0.72727	0.21429	0.21622	0.80488	0.64516	0.43902	0.41667	0.49479
He por locus		0.59530	0.36915	0.30821	0.83147	0.86669	0.48768	0.42897	

Diferenciación poblacional

El programa SpaGedi 1.2 (Hardy y Vekemans 2002) mostró que el parámetro que mejor se ajusta para los *loci* utilizados es el F_{ST} , al sustentarse la hipótesis nula de que las diferencias en el tamaño de los alelos no contribuyen a la diferencia poblacional observada.

Al realizar estimaciones de diferenciación poblacional mediante las estimaciones de F_{ST} y la prueba exacta de heterogeneidad genética se encontraron diferencias significativas entre algunas de las comparaciones entre pares de muestras.

En el caso de la prueba de heterogeneidad, las dos muestras pertenecientes a Perú (Pe02-Pe05) resultaron significativamente diferentes, mostrando diferenciación temporal (tabla 4).

Mediante esta prueba se detectó también, que la localidad de Pe02 difirió de las dos localidades de Oaxaca (Oax04–Oax05), señalando por lo tanto diferenciación dentro de la región oriental del Pacífico.

También fueron detectadas diferencias entre localidades de la zona oriental y central (Pe05-Hw08 y Pe02-Hw08), no obstante, el mayor número de pruebas significativas resultó entre los muestreos de las regiones occidental y oriental (Pe05-Fi93, Pe05-Tw04, Pe02-Tw04, Oax05-Tw04 y Oax05-Fi93).

Por su parte, los valores de F_{ST} resultaron entre -0.00123 y 0.01880 mostrando, al igual que en la prueba de heterogeneidad, pruebas significativas para diferencias temporales (Pe02-Pe05), entre las localidades de la región oriental (Pe02-Oax04), oriental-central (Pe02-Hw08, Pe05-Hw08) y oriental-occidental (Pe05-Fi93, Pe05-Tw04, Pe02-Tw04 y Oax05-Fi93).

Cabe señalarse que las diferencias mediante la prueba exacta de heterogeneidad fueron similares a las estimaciones de F_{ST} , con la excepción de dos casos: Pe02-Oax05 y Oax05-Tw04.

Al aplicar el criterio de corrección de alfa mediante la prueba de Bonferroni, las diferencias que persistieron significativas para la prueba de heterogeneidad fueron entre las localidades Pe02-Pe05, Pe02-Tw04, y Pe02-Hw08, mientras que, mientras que mediante el cálculo de F_{ST} fue sólo entre Hw08 y Pe02 (Tabla 4).

Tabla 4- Comparaciones poblacionales pareadas. Por arriba de la diagonal se muestran los valores de probabilidad de significancia obtenidos con la prueba exacta de heterogeneidad de frecuencias y por debajo los valores de F_{ST} entre pares de muestras. Se resaltan con negritas los valores significativos (< 0.05), con cursiva (< 0.001) y con asterisco (*) los valores significativos después de aplicar la corrección de Bonferroni ($0.05/21 = 0.0024$).

	<i>Pacífico Oriental</i>		<i>P. Central</i>	<i>Pacífico Occidental</i>			
	Norte Pe05	Sur Pe02	Oax04	Oax05	Hw08	Tw04	Fi93
Pe05	-	<i>0.000371*</i>	0.425130	0.572524	0.016647	0.004969	0.010098
Pe02	0.01073	-	<i>0.047407</i>	<i>0.008469</i>	<i>0.001297*</i>	<i>0.000155*</i>	0.131540
Oax04	-0.00001	0.01102	-	0.274772	0.332936	0.431323	0.438861
Oax05	0.00006	0.00309	0.00586	-	<i>0.389470</i>	0.027682	0.029709
Hw08	0.01293	0.01880*	0.00692	<i>0.00098</i>	-	0.346056	0.143851
Tw04	0.01137	0.01223	0.00498	<i>0.00655</i>	0.00098	-	0.224121
Fi93	0.01325	0.00678	0.00216	0.00752	0.00035	-0.00123	-

Estructura genética

A continuación se presentan los resultados obtenidos de cada agrupamiento realizado, mediante los análisis para la evaluación de la estructura genética (AMOVA y STRUCTURE).

Occidental-central-oriental

En el AMOVA realizado para este agrupamiento (occidental, central y oriental), se observó diferenciación entre grupos marginalmente significativa ($F_{CT}=0.0061$; $P=0.04990$). Al compararse únicamente la región occidental y oriental excluyendo la localidad de Hawái con el fin de maximizar el poder estadístico del análisis (esto al contar una sola localidades en la región central), la divergencia resulto nuevamente en un valor marginalmente significativo ($F_{CT} = 0.00545$; $P=0.04109$) (Tabla 5).

Así mismo puede observarse que en ambos análisis, los valores de F_{ST} (diferenciación dentro de las poblaciones), resultaron altamente significativos ($F_{ST} = 0.00821$, $P= 0.00099$) ($F_{ST} = 0.00904$, $P= 0.00188$), lo que es congruente con la alta variabilidad encontrada en este estudio (Tabla 5).

Tabla 5- Valores obtenidos para los tres estadísticos de Fisher (F_{CT} , F_{SC} y F_{ST}), así como el valor de significancia (P) para los AMOVA realizados agrupando a las localidades de acuerdo a su distribución geográfica en oriental-central-occidental y oriental-occidental. Se señalan en negritas los valores significativos ($P<0.05$).

Origen de la variación	% variación	Índices de fijación	F- estadístico	P
Oriental-central-occidental				
Entre grupos	0.46119	F_{CT}	0.0061	0.04990
Entre poblaciones dentro de los grupos	0.35932	F_{SC}	0.00361	0.07218
Dentro de las poblaciones	99.1795	F_{ST}	0.00821	0.00099
Oriental-occidental				
Entre grupos	0.54549	F_{CT}	0.00545	0.04109
Entre poblaciones dentro de los grupos	0.35851	F_{SC}	0.00360	0.0664
Dentro de las poblaciones	99.09599	F_{ST}	0.00904	0.00188

En la evaluación de la estructura genética de este mismo agrupamiento de las muestras mediante estadística bayesiana con el programa STRUCTURE, se encontraron resultados similares, que señalan divergencia genética entre las localidades agrupadas de la región oriental y occidental.

Como se mencionó anteriormente para este análisis se realizaron corrimientos de prueba que no mostraron resultados divergentes al utilizarse diferentes longitudes de *burn-in* y cadenas de Markov. No obstante, se encontraron diferencias al evaluarse los modelos de mezcla y sin mezcla manejados en el programa.

Utilizando el modelo que asume mezcla entre las poblaciones, resultó en todos los casos que el índice de verosimilitud decrece al aumentar k , asumiendo por lo tanto la existencia de niveles bajos o nulos de subdivisión poblacional.

Por otro lado, al usar el modelo sin mezcla, que es presumiblemente más adecuado para detectar diferenciación poblacional cuando esta es débil (Pritchard *et al.*, 2000), como en el caso de las especies marinas altamente migratorias (Waples, 1998; Cano *et al* 2008), se encuentra el valor más probable para $k=2$ del análisis entre todas las poblaciones sin ningún agrupamiento (Figura 16).

Aunque el programa muestra un gráfico señalando a las poblaciones que genéticamente resultaron diferentes, en este caso no fue posible distinguirlas, por lo que se realizaron corrimientos con la finalidad de definir las.

De este modo las poblaciones fueron agrupadas en las regiones oriental, central y occidental, resultando nuevamente $k=2$ la más probable tanto con los valores promedios de probabilidad obtenidos con STRUCTURE como mediante el método de Evanno (Figura 17).

De igual manera para identificar las dos poblaciones señaladas en este último análisis se compararon de manera independiente a la población central con la oriental y occidental, resultando k igual a 1 como la más probable en ambos casos, mientras que en la comparación entre la zona oriental y occidental resultó más probable k igual a 2 (Figura

18), con lo que se concluye que las dos poblaciones heterogéneas que se determinaron son la oriental y occidental.

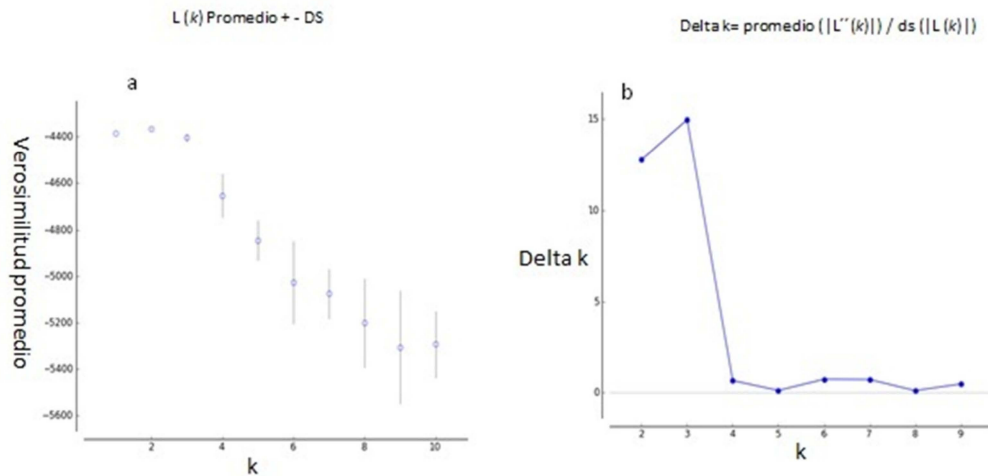


Figura 16-Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: a) corrimiento de las siete localidades probando $k=1-10$, muestra la verosimilitud promedio del total de iteraciones (30) y desviación estándar (DS) para cada valor de k . Resultando la mayor probabilidad para $k=2$. b) Gráfica del valor de delta k , que corresponde al promedio de $|L''(k)|$ dividido por la desviación estándar (ds) (método de Evanno *et al.* 2005), que muestra que $k=3$ resultó ser la más probable.

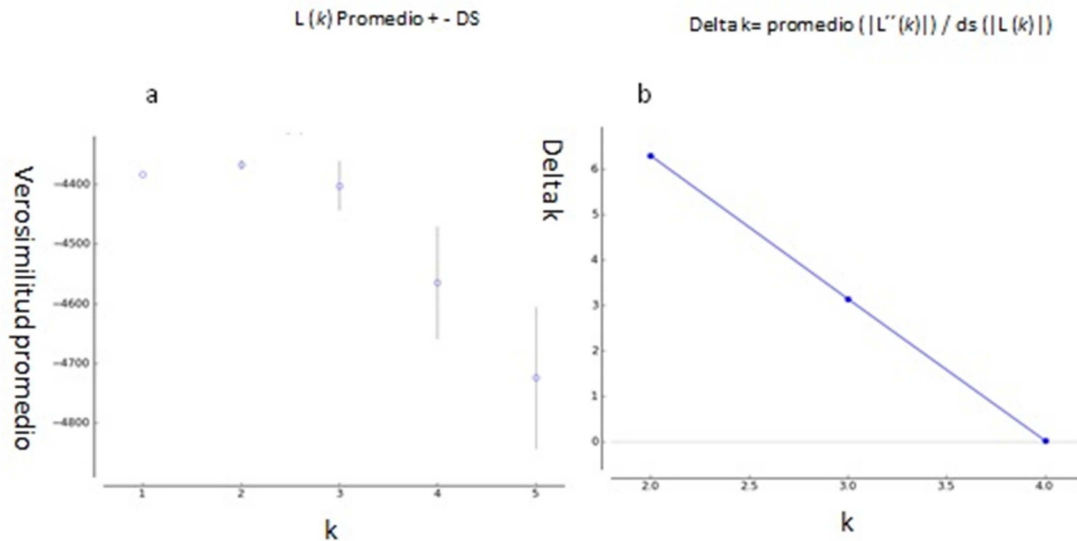


Figura 17- Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: a) corrimiento de las localidades agrupadas en regiones (occidental-central-oriental) probando $k=1-5$, muestra la verosimilitud promedio del total de iteraciones (30) y desviación estándar (DS) para cada uno de los valores de k . Señalando mayor probabilidad para $k=2$. b) Gráfica del valor de delta k , que corresponde al promedio de $|L''(k)|$ dividido por la desviación estándar (ds) (método de Evanno *et al.* 2005). El punto máximo de probabilidad se encontró en $k=2$

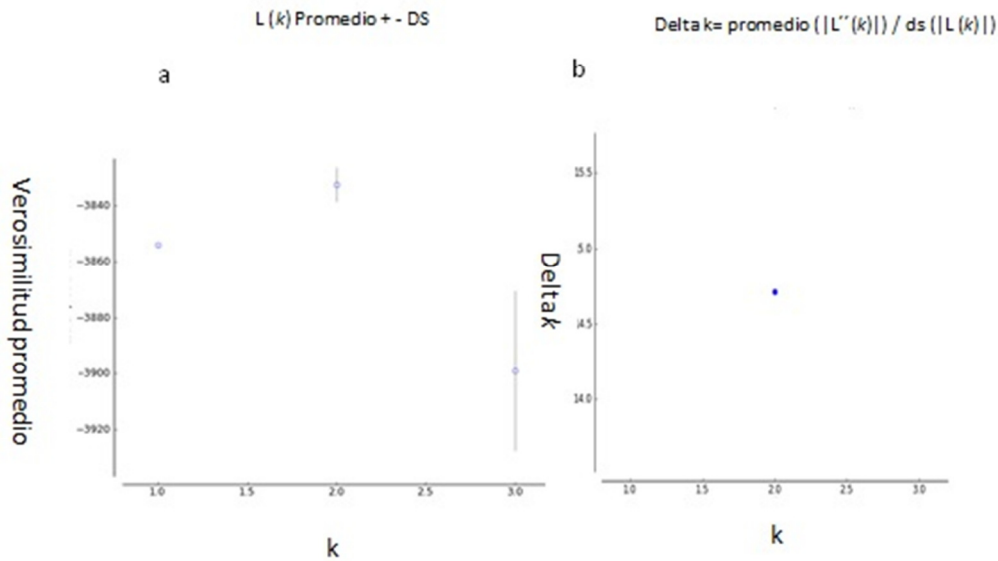


Figura 18- Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: a) corrimiento de las localidades agrupadas en regiones (occidental –oriental) probando $k=1- 3$, muestra la verosimilitud promedio del total de iteraciones (30) y desviación estándar (DS) para cada valor de k . Señalando mayor probabilidad para $k= 2$. b) Gráfica del valor de delta k , que corresponde al promedio de $|L''(k)|$ dividido por la desviación estándar (método de Evanno *et al.* 2005). El punto máximo de probabilidad se encontró en $k=2$.

Occidental central-oriental

Al incorporar la muestra de Hawái a la región occidental, con el fin de evaluar la divergencia entre las regiones central occidental- oriental reportada previamente por Ward *et al.*, (1994) para el *locus* GPI, en al AMOVA se encontró nuevamente un valor significativo para la varianza entre grupos ($F_{CT}=0.00604$; $P=0.00802$) (Tabla 6).

De la misma manera resultó significativo el valor de P para las poblaciones dentro de los grupos ($F_{SC}= 0.00924$; $P= 0.00158$), pero no dentro de las poblaciones (Tabla 6).

Tabla 6- Muestra los valores obtenidos para los tres estadísticos de Fisher (F_{CT} , F_{SC} y F_{ST}) así como el valor de p , para el AMOVA realizado, agrupando a las localidades central occidental y comparándolas con la oriental, señalando en negritas aquellos que son significativos ($p < 0.05$).

Central occidental- oriental				
Entre grupos	0.60404	F_{CT}	0.00624	0.00802
Entre poblaciones dentro de los grupos	0.31955	F_{SC}	0.00321	0.07624
Dentro de las poblaciones	99.07641	F_{ST}	0.00924	0.00158

El resultado de STRUCTURE corroboró la existencia divergencia entre los grupos formados (occidental central-oriental), señalando mayor probabilidad para la existencia de dos grupos heterogéneos ($k= 2$), como puede verse en la figura 19 donde también se observa que con la prueba de Evviano se diferencian dichas agrupaciones.

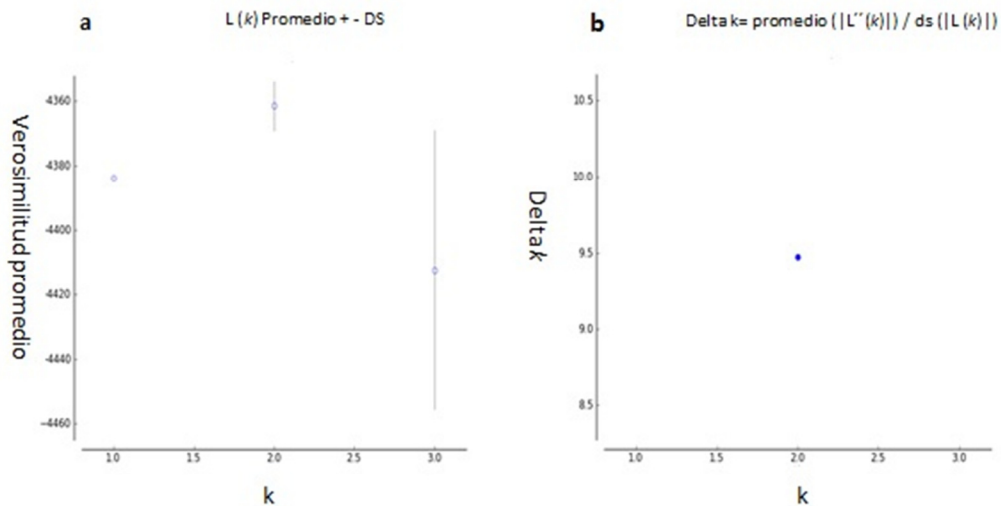


Figura 19- Gráficas obtenidas con HARVESTER STRUCTURE: a) corrimiento de las localidades agrupadas en regiones (occidental central-oriental) probando $k=1-3$, muestra la verosimilitud promedio del total de iteraciones (30) y desviación estándar para cada uno de los valores de k . Señalando mayor probabilidad para $k=2$. b) Gráfica del valor de delta k , que corresponde al promedio de $|L''(k)|$ dividido por la desviación estándar (método de Evanno *et al.* 2005). El punto máximo de probabilidad se encontró en $k=2$.

Suroriental-nororiental

En ninguna de las agrupaciones realizadas para descartar si la señal de diferenciación entre grupos mencionada anteriormente provenía particularmente de una zona del OPO (norte o sur) resultó en un valor significativo para la diferenciación entre grupos (F_{CT}) ni para las poblaciones dentro de los grupos (F_{SC}) (Apéndice II).

Por otro lado se observaron niveles significativos para F_{ST} en los siguientes AMOVA: oriental sur-central-occidental ($F_{ST}=0.00998$; $P=0.00010$), oriental norte-occidental ($F_{ST}=0.00563$; $P=0.04950$) y para oriental sur-occidental ($F_{ST}=0.01129$; $P=0.00149$) (Apéndice III).

Análisis de Componentes Principales

Mediante el Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés) se observó un claro agrupamiento de las poblaciones en las regiones oriental, central y occidental del Pacífico, donde pueden verse a Pe05 (1), Oax05 (4) y Oax04 (6) como grupo homogéneo (oriental), a las localidades de Tw04 (3) y Fi93 (7) agrupadas en otro (occidental) y finalmente a las poblaciones de Hw08 (2) (central) y Pe02 (5) aisladas cada una en diferentes grupo (Figura 20).

Es posible asimismo observar aunque de manera menos consistente, un subgrupo; en el caso del Pacífico oriental se observa la tendencia a separarse en un grupo al norte del océano Pacífico (Oaxaca 2004 (6) y 2005 (4)). Los porcentajes de inercia y F_{ST} fueron para el eje X de 33.17%; 0.006 y para el Y 24.85%; 0.004.

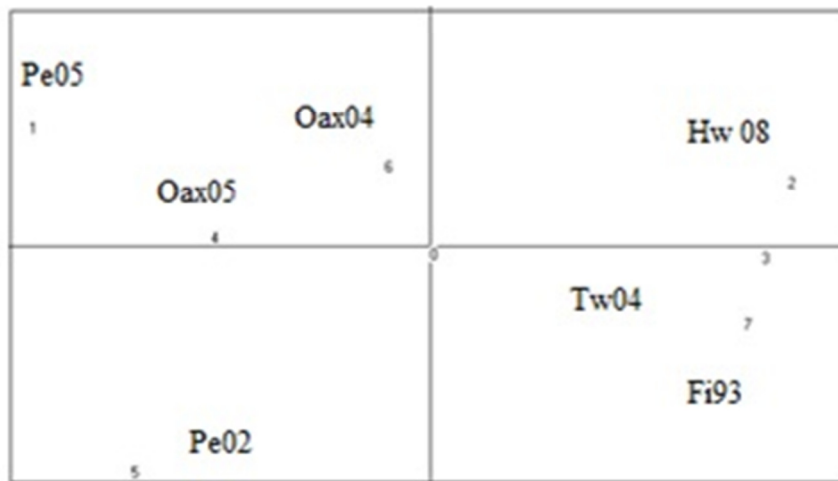


Figura 20- Resultados del ACP, los números representan a las siete poblaciones analizadas, los correspondientes a cada población son: Pe05 (1), Hw08 (2), Tw04 (3), Oax05 (4), Pe02 (5), Oax04 (6), Fi93(7).

Tamaño efectivo poblacional y flujo genético.

Los valores estimados de N_e entre las localidades se encontraron entre 217.21 para Oax04

y 236.27 para Tw04, resultando muy similar para todas las localidades (promedio = 229.8).

Tabla 7- Muestra los valores de Θ obtenidos para el cálculo de N_e mediante la fórmula: $\Theta=4N_e\mu$; $N_e= \Theta/4\mu$ considerando una tasa de mutación de $1*10^{-4}$

Población	Θ	$\mu (1*10^{-4})*4$	N_e
Pe05	0.09397	.0004	234.93
Pe02	0.09269	.0004	231.73
Oax04	0.08684	.0004	217.21
Oax05	0.09318	.0004	232.95
Hw08	0.09267	.0004	231.68
Tw04	0.09450	.0004	236.27
Fi93	0.08955	.0004	223.86

En cuanto al flujo génico determinado como N_m , se obtuvieron valores de entre 0.30109514 para la migración de Oax04 hacia Tw04 y de 0.78589318 para la migración de Oax05 a Hw08.

El promedio del rango de migrantes recibidos por cada localidad resultó muy similar para todas las poblaciones entre 0.44724229 para Pe05 y 0.66117075 para Hw08. Siendo la población central (Hw08) la que más migrantes recibe (Tabla 7).

Tabla 8. Se muestra el número de migrantes entre localidades. Resaltando en negritas los valores más altos (>0.6) y más bajos (<0.4) encontrados.

Origen	Población Receptora						
	<i>Pe05</i>	<i>Pe02</i>	<i>Oax05</i>	<i>Oax04</i>	<i>Hw08</i>	<i>Tw04</i>	<i>Fi93</i>
Pe05		0.7549639	0.66211862	0.62312958	0.77731639	0.50747223	0.65817778
Pe02	0.33936035		0.38793724	0.74612286	0.60332772	0.53241557	0.40078806
Oax05	0.45276579	0.36992771		0.59747965	0.78589318	0.44937069	0.49141589
Oax04	0.38200875	0.6327404	0.47216552		0.58939116	0.30109514	0.51357307
Hw08	0.42991925	0.45218557	0.44200028	0.53121493		0.48826782	0.51832391
Tw04	0.53221451	0.63923762	0.50420926	0.59625603	0.6575114		0.44506793
Fi93	0.5471851	0.38827617	0.47201616	0.5363679	0.55358466	0.46064172	

Prueba de poder estadístico

En cuanto a la prueba de poder estadístico, se observó que las generaciones necesarias, después de la deriva genética para la detección confiable de diferenciación mediante las pruebas evaluadas, depende, como era de esperarse, del tamaño efectivo poblacional (N_e) utilizado.

Encontrándose que, al considerar un menor N_e el tiempo en que teóricamente se alcanza la mayor eficacia en las pruebas evaluadas también es menor, ya que para $N_e=200$, el valor más pequeño probado, en 25 generaciones sería posible detectar diferenciación genética con total eficiencia, mientras que los valores mayores probados logran esa eficacia entre las 100 y 200 generaciones.

La prueba de poder estadístico muestra que a partir de las 200 generaciones después de la separación de las poblaciones de atún aleta amarilla en el océano Pacífico, sería posible mediante las condiciones del análisis realizado, detectar con cien por ciento de eficacia, diferencias genéticas mediante las pruebas de X^2 y Fisher utilizadas, con todos los tamaños efectivos manejados, no obstante, puede señalarse que a partir de las 50 generaciones, la eficacia es de más del 50 por ciento para todos los corrimientos realizados (Tabla 8).

La probabilidad de error tipo 1 (estimado de α), para todos los valores de N_e e independientemente de la prueba evaluada, mostró valores bajos de entre 0.022 y 0.072.

Tabla 9- Se muestra el poder estadístico expresado en porcentaje para la prueba de X^2 y Fisher dado un tamaño efectivo poblacional ($N_e = 200, 4175$ y 12331) y un determinado tiempo generacional ($t = 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000$ y 5000) y la probabilidad de error tipo I.

Ne	200		4175		12331	
T	X ²	Fisher	X ²	Fisher	X ²	Fisher
0	0.026	0.036	0.022	0.044	0.036	0.072
25	100	100	79.2	75.2	22	23.6
50	100	100	99.8	99.8	52.6	50.8
100	100	100	100	100	94.4	89.6
200-5000	100	100	100	100	100	100

Discusión

Diversidad genética.

La heterocigosidad observada refleja alta variabilidad genética, resultando en el valor total por población y *locus* igual a 0.549, similar al obtenido por Appleyard *et al.*, (2001) y por Qiu *et al.*, (2011) para atún aleta amarilla, cuyos valores de H_o fueron 0.589 y 0.622 respectivamente, así como a los reportados para otras especies de atunes como para el atún rojo del Atlántico *Thunnus thynnus thynnus* por Carlsson *et al.*, (2004; 0.6686) y para el atún patudo, *Thunnus obesus* (0.742; González *et al.*, 2008). De la misma manera los estimados

de diversidad genética obtenidos, como número promedio y efectivo de alelos fueron congruentes con estudios anteriores en los que se analizaron los mismos *loci* microsatelitales (Appleyard *et al.*, (2001), Carlsson *et al.*, (2004) y Qiu *et al.*, (2011).

De los parámetros de diversidad genética (N_a , N_e y R) puede observarse que la población Fi93 es la de mayor diversidad, no obstante, esta misma localidad resultó con las estimaciones menores de H_o y con mayor desviación al equilibrio de H-W. El área de islas de las Filipinas ha sido propuesta como un sitio donde convergen diferentes cohortes genéticos del atún aleta amarilla (Qiu *et al.*, 2011, Wells *et al.*, 2011), esto explicaría la alta variabilidad genética encontrada e incluso la notable divergencia entre la heterocigosidad observada y esperada que se presentó en esta localidad, lo que en caso de corroborarse pudiera servir para justificar la designación de esta zona como área de reserva marina, en pro de la conservación de *Thunnus albacares* en el océano Pacífico. Por otro lado la localidad de Hw08, resultó con menor N_a , N_e y R , lo pudo deberse al número de ejemplares analizados para esta localidad, considerando que algunas de las pruebas para diversidad genética son sensibles al número de muestra utilizado.

En este estudio fueron realizadas comparaciones entre muestreos temporales: Oaxaca 2004-2005 y Perú 2002–2005, con el fin de evaluar la estabilidad temporal en las diferencias significativas encontradas. El realizar muestreos temporales es útil en proporcionarnos información del sesgo que pudiera existir entre las colectas de una determinada localidad, es decir, la congruencia temporal cuando se evalúan diferencias espaciales nos indica que éstas representan señales de separación real de las poblaciones, más que a los efectos aleatorios del muestreo, lo que pudiera estar causando señales erróneas de diferenciación (Waples, 1998).

Con base en el párrafo anterior, puede señalarse que aunque la localidad de Perú presentó diferenciación temporal, tanto Pe05 como Pe02 presentaron consistencia en las diferencias con otras localidades, es decir, ambos muestreos presentan para la prueba de heterogeneidad genética y los valores de F_{ST} diferencias significativas en relación a Hw08 y Tw04, lo que refuerza la señal de diferenciación encontrada en el presente estudio.

Cabe señalar que las diferencias temporales en estudios de genética poblacional han sido ampliamente documentadas, explicándose por los posibles éxitos diferenciales para supervivencia de diferentes cohortes genéticos, provenientes de diferentes individuos parentales en, en otras palabras; es posible que en un año de muestreo se colecten individuos provenientes de algunos individuos parentales, cuyos genotipos estuvieron sobrerrepresentados debido a su éxito reproductivo y que dicha progenie difiera en gran medida de la colecta posterior, teniendo en este año mayor sobrevivencia una progenie diferente (Larson *et al.*, 1999).

Equilibrio de Hardy Weinberg y desequilibrio de ligamiento

De manera simplificada el teorema de H-W asume que en las poblaciones naturales las frecuencias alélicas se mantendrán en equilibrio cuando la reproducción entre individuos es aleatoria (Panmixia), la población funcione como sistema cerrado (sin migración o mutación), su tamaño sea infinito, exista herencia mendeliana simple y la selección no esté actuando sobre la población. El cumplimiento de cada supuesto en las poblaciones naturales es poco usual, por lo que las desviaciones al equilibrio de H-W son comunes en análisis de genética poblacional y nos brindan elementos para evaluar diferentes hipótesis acerca de la historia evolutiva de las poblaciones (Beebee *et al.*2008).

En el análisis aquí presentado resultaron pruebas significativas tanto para déficit como exceso de heterócigos en algunos *loci*. No obstante que las desviaciones al equilibrio de H-W son reflejo del efecto que en las poblaciones tienen factores como la selección natural, la endogamia, el ligamiento genético, entre otras, en especies con fecundación externa, alta mortalidad natural y tamaños efectivos grandes, estas desviaciones son frecuentes y por lo general se encuentran asociadas al sesgo en el muestreo realizado.

Las especies pelágicas como el atún aleta amarilla se caracterizan por poseer uno de los tamaños efectivos poblacionales más grandes y en consecuencia gran diversidad genética. Esto en un momento dado maximiza el error de muestreo al ocasionar que los individuos colectados no sean representativos de la amplia variabilidad genética que presenta esta especie. Sumado a esto se debe considerar que el desove en estas especies es externo y muy

abundante por lo que la posibilidad de la sobrerrepresentación de los fenotipos provenientes de un grupo reducido de hembras es alta, provocando de la misma manera sesgo en el muestreo realizado.

De la misma manera, la deficiencia de heterocigos, prueba en la que resultaron más valores significativos al ajuste de H-W para localidades pertenecientes a las tres zonas geográficas analizadas es regularmente atribuido al denominado efecto Wahlund, el cual consiste en la disminución en la heterocigosidad observada por el efecto de incorporar poblaciones con algún grado de subdivisión poblacional en un número k de grupos. Este fenómeno ha sido observado mayoritariamente en áreas de crianza para algunas especies de atún (Carlsson *et al.*, 2004; Gonzales *et al.*, 2008). En el presente estudio se realizaron muestreos en algunas de las áreas de crianza que han sido detectadas para atún aleta amarilla en el océano Pacífico, incluyendo regiones cercanas a Hawái y Filipinas (Wells *et al.*, 2011) por lo que es viable la posibilidad que sea el efecto Wahlund lo que causó el déficit de heterocigotos encontrado en diversos *loci*.

Diferenciación poblacional

De manera general se ha observado que determinar la estructura de unidades de pesca mediante el parámetro F_{ST} en el ecosistema marino es relativamente más difícil que en aguas continentales debido a que el primero se considera un ambiente carente de barreras geográficas. De esta forma, se han encontrado valores promedio de diferenciación genético-poblacional estimados entre 0.062 y 0.222 respectivamente (Ward, 2000).

En el presente estudio los valores de F_{ST} resultaron bajos, con un F_{ST} global de 0.0065, no obstante, fueron significativos en algunos casos. En estudios anteriores de atún aleta amarilla usando microsátélites los valores promedio de F_{ST} resultaron comparativamente menores; en el estudio de Morales (2009) fue de 0.0038 mientras que para Appleyard *et al.*, 2001 de 0.002. Se destaca que en el primer caso el análisis se restringió al Pacífico oriental mientras que en el segundo se usó un menor número de *loci*.

Cabe mencionar que aunque el valor de F_{ST} promedio para peces marinos es estimado en 0.062, la mediana calculada para 57 especies es igual a 0.02 (Waples, 1998), similar al mayor valor observado entre muestras de diferentes regiones del Pacífico en el presente estudio, especialmente de la zona occidental y oriental cuyos valores de F_{ST} oscilaron entre 0.010 a 0.013, resaltando las diferencias encontradas.

De manera general se ha observado que las especies marinas presentan nula o escasa estructura genética poblacional al ser evaluada con marcadores moleculares neutrales, lo que ha sido explicado por la existencia de niveles significativos de flujo entre las poblaciones. No obstante, se ha considerado que aspectos como el gran tamaño efectivo poblacional característico de algunas especies marinas, son responsables de la falta de señales claras de diferenciación genética entre poblaciones de especies pelágicas, lo que sin lugar a dudas responde importantes cuestiones para el manejo adecuado de estos recursos (Cano *et al.*, 2008).

En el caso del atún aleta amarilla, diversos estudios de marcaje han demostrado que pese a las capacidades fisiológicas de la especie, los movimientos detectados se limitan a cientos de kilómetros, lo que podría limitar el intercambio genético entre localidades a lo largo del Pacífico. Aunado a lo anterior, en el ecosistema marino factores como la presencia de giros, frentes oceánicos, gradientes en la profundidad de la termoclina, zonas de surgencia, etc., pueden actuar como barreras a la dispersión o en la retención de larvas.

La dispersión de las poblaciones y en consecuencia el flujo genético entre estas, puede ocurrir mediante deriva larvaria a través de las corrientes. En el desplazamiento en etapas tempranas por el arrastre de larvas a causa de las corrientes oceánicas, se debe considerar que cuando el sistema de corrientes se encuentra formado por contracorrientes y giros, como en el océano Pacífico, puede resultar en la retención de larvas y peces en estadios juveniles, lo que evitaría el intercambio genético entre poblaciones (Stepien *et al.*, 2000). Sumado a esto, el reporte de los principales cúmulos de larvas de atún aleta amarilla, y muy posiblemente el desove, se encuentran en zonas aledañas a masas continentales o de

conglomerado de islas (Lehoey *et al.*, 1999), lo que podría limitar la dispersión de las poblaciones por deriva larvaria.

Con base en la información anterior y en los estudios que han señalado importantes diferencias en caracteres morfométricos entre diferentes zonas del océano Pacífico, es factible suponer que las poblaciones de atún aleta amarilla puedan presentar divergencia genética a nivel regional.

Pese a lo anterior, el estudio de Appleyard *et al.*, 2001, donde se planteó el mismo objetivo e incluso se basó en el uso de microsatélites, no se reportaron diferencias genéticas entre las localidades del oriente y occidente del Pacífico y los valores de diversidad genética estimados resultaron ser mayores comparativamente con el presente análisis. Lo anterior resulta explicable si consideramos que hubo notables diferencias en el muestreo, tipo de microsatélites utilizados (tetranucleótidos y/o dinucleótidos) y en las consideraciones estadísticas que fueron tomadas en cuenta, como lo son el valor límite de significancia y la aplicación de la denominada prueba de Bonferroni.

La corrección de Bonferroni se ha convertido en un método muy usado para evitar la sobreestimación de los niveles de diferencia para determinar la significancia estadística. Con esto se evita en lo posible el error tipo I. No obstante, su uso ha sido debatido por algunos autores, argumentando que dicho procedimiento puede aumentar el error estadístico Tipo II sesgando la información que usualmente se publica (Nacagawa 2004) llegando incluso a proponer procedimientos menos conservativos (Narum 200).

Debido a que, como se mencionó anteriormente, los valores de F_{ST} son regularmente bajos en especies marinas altamente migratorias es viable considerar que las señales significativas de diferencia poblacional pudieran resultar informativas, aun después de que al aplicar la corrección de Bonferroni no resultaran significativas, siempre que dichas diferencias se respalden con información biológica de la especie y puedan ser corroboradas con análisis y estudios diferentes.

Debido a lo anterior, en el presente análisis se tomaron en cuenta y analizaron todas las diferencias significativas encontradas y puede mencionarse que en el estudio de Appleyard *et al.*, 2001 pudieron haberse subestimado comparaciones con valores de P menores a 0.05, que señalan diferencias entre la región oriental y occidental de la cuenca del Pacífico.

Con base en los resultados de F_{ST} y las pruebas de heterogeneidad genética, que en gran medida son congruentes entre sí, pudieron realizarse agrupamientos de las localidades estudiadas, con la finalidad de detectar divergencia genética entre zonas al maximizar la variación genética encontrada mediante el análisis de varianza molecular y aproximaciones basadas en estadística Bayesiana con el análisis de STRUCTURE. Ambos análisis mostraron resultados similares entre sí

Región occidental-central-oriental.

Existen tres áreas de alta densidad larvaria para *Thunnus albacares* en el océano Pacífico que corresponden a las tres regiones señaladas para esta cuenca oceánica (occidental, central y oriental) (Lehoey *et al.*, 1999). Aunado a lo anterior existen reportes de diferencias morfométricas entre dichas zonas, así como los ya mencionados de movimientos restringidos de la especie. Esto hace posible suponer la existencia de tres unidades independientes. Por lo anterior y debido a que en el análisis presentado se encontraron diferencias entre algunas localidades de las diferentes áreas analizadas se probó la existencia de estructura genética poblacional que fuera congruente a lo ya señalado.

Con base en el análisis de STRUCTURE así como con el AMOVA se encontró una señal de diferenciación genética entre las poblaciones de la zona oriente y occidente, mientras que el análisis de componentes principales (ACP) agrupó con el mayor porcentaje de inercia, a las localidades de la región central, occidental y oriental. Estos resultados nos muestran que aunque la región central pudiera presentarse como una unidad aislada, los análisis aplicados no fueron suficientemente consistentes para que dicha región pudiera ser designada como una UP independiente en el océano Pacífico. De otra forma, la posibilidad de la existencia de flujo genético entre las regiones occidental y central del Pacífico podría

resultar de la deriva larvaria. En este sentido las corrientes que conectan a ambas regiones, como la de Kuroshio así como la menor distancia entre ambas en relación a la región oriental y la presencia de islas, podrían jugar un papel preponderante en la conectividad entre ambas regiones.

Sin embargo, si consideramos el hecho de que en la región central consistió de sólo una colecta, resulta necesario contar con una muestra más representativa de dicha zona para evaluar la estructura entre las zonas central y occidental.

Región occidental-central-oriental.

Ward *et al.* 1994 proponen dos grupos independientes de atún aleta amarilla a lo largo del océano Pacífico, uno correspondiente a la región centro-occidental y uno a la oriental con base en su estudio realizado con isoenzimas así como en diversos estudios morfométricos. De la misma manera en ninguna de las pruebas pareadas de heterogeneidad genética y F_{ST} del presente análisis, se encontró que alguna de las localidades de la región central difería con las de la occidental, Por estas razones se realizaron pruebas de estructura genética con STRUCTURE y AMOVA, agrupándose a las localidades de la manera mencionada (central-occidental y oriental).

Con este agrupamiento se obtuvo el valor de AMOVA de mayor significancia ($P= 0.00802$) para las diferencias encontradas entre grupos. Este análisis es sensible a la manera en que las muestras son agrupadas (Fitzpatrick, 2009), por lo que si se considera que mediante el agrupamiento señalado se consigue una manera más balanceada de dividir a las poblaciones (tres en la región centro-occidental y cuatro en la oriental), puede considerarse que este fue de los factores que contribuyó a la obtención del mencionado valor de P, no obstante, los análisis de STRUCTURE y ACP respaldan el resultado obtenido.

Dicho agrupamiento resulta consistente si consideramos que el Pacífico oriental se encuentra delimitado por lo que se considera la barrera oriental del Pacífico. Dicha barrera, de aproximadamente 5000 Km de longitud, ha sido reportada como limitante en la

migración entre individuos de diferentes especies desde la región oriental a la occidental (Lessios *et al.*, 2006) por lo que resulta posible que el flujo génico entre las regiones mencionadas sea limitado por la distancia entre ambas. A lo anterior se suma el hecho de la notable carencia de islas entre el Pacífico oriental y central, que en un momento dado pudieran actuar como sitios de enlace intermedios entre ambas áreas.

Pacífico Oriental: Norte y Sur

Fueron observadas algunas diferencias entre las regiones al norte y sur del Ecuador en el Pacífico oriental. Dichas diferencias fueron reportadas anteriormente por Díaz *et al.*, (2006) y Morales (2009) quienes señalan la posibilidad de que dichas diferencias correspondan a poblaciones reproductivas cuyas épocas de desove se encuentran desfasadas por la temporalidad en la ocurrencia entre el verano boreal y austral.

En la prueba de STRUCTURE, a diferencia de los AMOVA, se mantuvieron las señales de diferenciación entre la región oriental y occidental, aún al realizar las comparaciones independientes de las regiones sur y norte, lo que hace evidente la necesidad de indagar más sobre la heterogeneidad genética en el OPO, para de esta manera, de resultar cierto, realizar la correcta separación de UP en esta zona del Pacífico.

Tamaño efectivo poblacional y flujo génico

Los valores de N_e (promedio= 230) fueron relativamente bajos en comparación con el obtenido para el atún patudo (*Thunnus obesus*) en el océano Pacífico por Gónzales *et al.*, (2008) ($N_e=4,175$), para la especie *Thunnus orientalis* por Qiu *et al.*, (2011) ($N_e= 6,080$) y para los obtenidos de atún aleta amarilla por Morales (2009) ($N_e=12,331$) y por Qiu *et al.*, (2011) ($N_e= 8838$).

En todos los casos la tasa de mutación utilizada fue de 1×10^{-4} . No obstante, Morales (2009) y Qiu *et al.*, (2011), quienes obtuvieron valores más altos de N_e , utilizaron el modelo de alelos infinitos, mientras que en el presente estudio se utilizó el Browniano, que asume el modelo mutacional por pasos, considerado como la mejor opción al trabajar con marcadores microsatelitales.

No obstante a lo anterior los resultados de N_e en el presente estudio, resultó alto y consistente con los reportes en otras especies de atún si se considera que tamaños efectivos poblacionales de entre 50 son suficientes para minimizar los efectos de endogamia y que valores igual o mayores a 500 mantienen la variación genética adaptativa (Rieman, 2001), es posible asumir que las poblaciones aparentemente tienen la suficiente diversidad genética para contrarrestar los efectos de la pesca, no obstante es preciso la adopción de medidas regulatorias para evitar el deterioro o pérdida de diversidad relacionada con factores adaptativos

El hecho de que el valor de N_e sea considerado alto, tiene importantes implicaciones, tanto evolutivas como de conservación, ya que por ejemplo se considera que un valor alto de N_e , representa la principal causa de los valores bajos de diferenciación genética que son reportados en estas especies, lo que dificulta en gran medida la delimitación de UP en dichos organismos al utilizar marcadores moleculares neutrales como los microsatélites (Cano *et al.*, 2008).

En cuanto al número de migrantes puede observarse que ningún valor resultó mayor a 1 por lo que puede decirse que en determinado grado las poblaciones reciben una cantidad de migrantes menor al necesario para mantenerse homogéneas.

Los valores resultaron muy similares para todas las poblaciones, no obstante, puede claramente observarse que la localidad de Hawái resultó ser la que recibe mayor cantidad de migrantes, lo cual es congruente a la ubicación geográfica de dicha localidad, ya que al representar la zona central del Pacífico, confiere una zona que con mayor facilidad pudiera ser alcanzada tanto por individuos de la zona occidental como oriental.

Una de las causas por las que puede encontrarse una débil o nula diferenciación genética entre localidades, incluso de diferentes océanos, es que el tiempo transcurrido entre la divergencia poblacional no haya sido el suficiente para que las diferencias puedan ser detectadas mediante los marcadores moleculares utilizados (Ely *et al.*, 2005).

El tiempo generacional para atún aleta amarilla puede ser estimado en 3.5 años (Ely *et al.*, 2005), por lo que, con base en los resultados de la evaluación del poder estadístico de este análisis, tendrían que haber pasado alrededor de 350 y aproximadamente 1000 años de la separación entre las poblaciones de las distintas regiones analizadas para que mediante las pruebas utilizadas (X^2 y Fisher) pueda ser detectada con una alta confiabilidad la existencia de deriva génica entre las poblaciones del océano Pacífico.

Si se toma en cuenta que los géneros de atunes existentes aparecieron hace aproximadamente 60 millones de años (ma) y que la radiación del mismo, influida por procesos oceanográficos comienza hace prácticamente 50 ma (Graham 2004), puede considerarse la posibilidad de que hace de entre 350 y 1000 años pudieran haberse diferenciado en alguna medida las poblaciones de las diferentes regiones del océano Pacífico, debido a las cuestiones mencionadas en el presente documento.

Por lo anterior, puede considerarse que el número de *loci* utilizado así como el de muestras por población y de poblaciones analizadas en este estudio, fueron los factores que contribuyeron en la detección de diferenciación genética entre las poblaciones, lo que es factible si se considera que los microsatélites pueden detectar cambios genéticos recientes (entre 10 y 100 generaciones pasadas) (Selkoe *et al.*, 2006).

El presente estudio resultó en las señales de diferenciación genética esperadas, de acuerdo a datos de marcaje, morfométricos e incluso genéticos realizados con anterioridad. El diseño del muestreo en el presente análisis resultó adecuado para la evaluación de la divergencia genética de poblaciones de atún aleta amarilla en el océano Pacífico. Los resultados de este estudio tienen importantes aportaciones en la conservación de la especie analizada, ya que por un lado aunque el agrupamiento de la zona central-occidental como una unidad independiente de la oriental ya ha sido manejada en cuestiones de manejo pesquero, es la primera vez que de manera contundente se encuentran notables diferencias utilizando marcadores mitocondriales para *Thunnus albacares* en el océano Pacífico.

La inclusión de información de tipo evolutivo para la realización de planes de manejo, es importante en el sentido que minimiza las repercusiones que la práctica pesquera puede

tener sobre la variabilidad genética de las poblaciones, materia prima para la adaptación de las mismas a los diferentes cambios ambientales que enfrentan constantemente, no obstante, dada la gran cantidad de marcadores moleculares existentes, es necesario considerar sus características al evaluar la estructura genética de una determinada población.

Cabe resaltar que en el estudio de Ward *et al.*, (1994), la señal de estructuración genética entre la región central y occidental encontrada fue detectada sólo en uno de los alelos de la enzima GPI, llevando a los mismos autores a argumentar que la diferencia encontrada se debió a factores selectivos, más que a una diferenciación regional real. Esto es congruente si consideramos que las aloenzimas, utilizadas en el estudio mencionado, son marcadores propensos a la selección. Lo anterior resaltó, la necesidad de analizar la estructura genética del atún aleta amarilla con marcadores de tipo neutral, como los microsatélites, que con una mayor tasa de mutación y al ser marcadores genéticos, permitirían detectar las señales de diferenciación no asociadas a selección y sin la pérdida en la estimación de la variación genética, que pudo ocurrir en la evaluación con enzimas, debido a la redundancia en el código genético.

Los microsatélites confieren una útil herramienta para la estructuración espacial de las poblaciones, permitiendo en el presente estudio, encontrar señales apreciables de diferenciación genética entre diferentes zonas en el océano Pacífico, no obstante, debido a las limitaciones que tienen estos marcadores, tal como lo es, la incertidumbre en su tasa y modelo mutación, es altamente recomendable el uso de diversos marcadores y tamaños de muestra grandes si se desea dilucidar la estructura genética en especies como los peces marinos que usualmente presentan señales débiles de estructura genética (Ward, 2000). Otra alternativa, la representa la secuenciación de nueva generación, mediante la cual es posible secuenciar una región mucho más larga y por lo tanto más representativa del genoma de las especies, lo que podría lograrse también aumentando el número de *loci* analizados o bien, la inclusión de marcadores influenciados por selección, que se presume pueden ser útiles para detectar estructura poblacional en peces marinos (Cano *et al.*, 2008) con alto flujo génico (André *et al.*, 2010) como lo es el atún aleta amarilla.

Conclusión

Los resultados del presente análisis señalan que las poblaciones de atún aleta amarilla pertenecientes a la zona oriental-central del océano Pacífico constituye una unidad genéticamente diferente a las de la zona occidental.

Así mismo fueron detectadas señales de diferenciación tanto temporales como entre localidades de la región oriental, resaltando la necesidad de esclarecer la estructura genética de esta zona, lo que puede lograrse mediante la inserción de un mayor número de muestras, *loci* o el uso simultáneo de diferentes marcadores moleculares, tales como los mitocondriales o influenciados por selección .

El diseño del muestreo fue adecuado para corroborar la estructura poblacional, anteriormente descrita por diversos autores mediante diferentes aproximaciones metodológicas, a pesar de las limitantes del marcador utilizado (microsatélites), el posible sesgo por el muestreo aleatorio, así como otros factores que han imposibilitado una clara estructuración de la especie al utilizar métodos moleculares. Lo anterior contribuye a resaltar la importancia y utilidad de métodos genéticos para la obtención e inclusión de información valiosa en los planes de manejo de especies altamente comercializadas, para su manejo sustentable.

Referencias

Allendorf F.W. y G. Luikart (2009). Conservation and the genetics of populations. E.U.A.: John Wiley and Sons.

André C., Larsson L.C., Laikre L., Bekkevold D., Brigham J., Carvalho G.R., Dahlgren G., Hutchinson W.F., Mariani S., Mudde K., Ruzzante D.E. y N. Ryman. (2010). Detecting population structure in a high gene flow species, Atlantic herring (*Clupea harengus*): direct simultaneous evaluation of neutral vs putatively selected *loci*. *Heredity*. 106: 270-280.

Appelyard S.A., Grewe P.M., Innes B.H., y R.D. Ward (2001). Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Western Pacific Ocean, inferred from microsatellite *loci*. *Mar. Biol.* 139: 383-393.

Aranguren Méndez J.A., Román Bravo R., Isea W., Villasmil Y. y J. Jordana (2005). Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 1: 1022-1301.

Arreguín Sánchez F. (2006). Pesquerías de México en: Pesca, Acuicultura e investigación en México. Comisión de Pesca y Centro de Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria de la Cámara de Diputados.

Beebee T. y R. Graham (2008). An introduction to molecular ecology. Nueva York: Oxford University Press.

Braude S. y B.S. Low (2010) An introduction to methods and models in ecology, evolution, and conservation biology. Nueva Jersey: Princeton University Press.

Burg T.M., Gaston A.J., Winker K. y V.L. Friesen (2005). Rapid divergents and postglacial colonization in Western North American Steller's jays (*Cyanocitta selleri*). *Mol. Ecol.* 10(1111): 3-11.

Cano J. M., Shikano T., Kuparinen A. y J. Merilä (2008). Genetic differentiation, effective population size and gene flow in marine fishes: implications for stock management. *JIFS* 5: 1-10

Carlsson J., McDowell J. R., Díaz Jaimes P., Carlsson J. E. L., Boles S.B., Gold J.R. y J. E. Graves (2004). Microsatellite and DNA mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Mol. Ecol.* 13: 3345-3356

Carvalho, G. R., (1998). *Advanced in molecular ecology*. Gary R. Carvalho ed. Sicilia: IOS Press.

Castro, J. L., Aguirre, J. L. C., Pérez, H. E. y J. J. Soto (1999). *Ictofauna Estuarino-Lagunar y Vicaria de México*. México: Grupo Noriega Editores.

CIAT. Comisión Interamericana del Atún Tropical (2010). *Los atunes y peces picudos en el océano Pacífico oriental. Informe de la situación pesquera No. 8*. La Jolla: Comisión Interamericana del atún tropical

CIAT. Comisión Interamericana del Atún Tropical (2011). *Los atunes y peces picudos en el océano Pacífico oriental. Informe de la situación pesquera No. 9*. La Jolla: Comisión Interamericana del atún tropical

Collette Bruce B. y Cornelia E. Nauen (1983). *FAO Species catalogue Vol. 2 Scombrids of the world: an annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species Know to date*. Roma: FAO Fisheries synopsis No. 125 Vol. 2

Cooke Steven J., Suski Cory D., Ostrand Kenneth G., Wahl David H. y David P. (2007). *Physiological and Behavioral Consequences of Long-Term Artificial Selection for Vulnerability to Recreational Angling in a Teleost Fish*. *Physiol. Biochem. Zool.* 5(80): 480-490

Coombs, J.A., Letcher, B.H. y K.H. Nislow. (2008). CREATE: A software to create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. *Mol. Ecol. Resour.* 8(3): 578-580.

Creste S., N. Tulman A. y A. Figueira. (2001). Detection of Simple Sequence Repeat Polymorphisms in Denaturing Polyacrilamylde Sequencing Gels by Silve Staining. *Plant. Mol. Biol. Rep.* 19: 299-306

Dagorn L., Holland K. N., Hallier J.P., Taquet M., Moreno G., Sancho G., Itano D. G., Aumeeruddy R., Girard C., Million J. y A. Fonteneau (2006). Deep diving behavior observed in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Aquat. Living. Resour.* 19: 85-88

Dent A. y M. Bridgett (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4(2): 359-361

Díaz Jaimes, P. y M. Uribe Alcocer (2006). Spatial differntiation in the eastern Pacific yellowfin tuna revealed by microsatellite variation. *Fisheries Sci.* 72(3): 590-596.

Eguiarte L. E. y D. Piñero (1990). Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *CIENCIAS* 4: 34-47.

Ellegren H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat. Rev. Genet.* 5(6): 435-445.

Ely B., Viñas J., Alvarado Bremer J., Black D., Lucas L., Covello K., Labrie A. 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 Evol. Biol.* 5:19.

Erickson J. (2003). *Marine geology: exploring the new frontiers of the ocean*. Nueva York: Checkmark.

Essington, T. E., Schindler D.E., Olson R.J., Kitchell J.F., Boggs C. y R. Hilborn (2002). Alternative fisheries and the predation rate of yellowfin tuna in the eastern pacific Ocean. *Ecol. Appl.* 12(3):724-734.

Evanno G., Regnaut S. 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., Smouse P.E. y J.M. Quatro (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491

Excoffier L. y H. Lischer (2009). Arlequin ver. 3.5: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Arlequin User manual. Instituto suizo de bioinformática.

FAO. Food and Agriculture Organization (2010). Examen mundial de la pesca y la acuicultura. En: El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Editado por: Mathiesen Á. M. Roma: Departamento de pesca y acuicultura de la FAO Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación.

FAO. Food and Agriculture Organization (2012). FAO Fisheries and Aquaculture Department. En:
[<http://www.fao.org/fishery/species/2497/en>]. Último acceso: 10 Febrero 2012.

Fernández Méndez J. I. (2006). Características y problemas de la pesca en México. En: Pesca, Acuicultura e investigación en México. Comisión de Pesca y Centro de Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria de la Cámara de Diputados México.

Fitzpatrick B.M. (2009). Power and sample size for nested analysis of molecular variance. *Mol. Ecol.* 18 (19): 3961-3966.

Frankham R., Ballou J. D. y D. A. Briscoe (2010). Introduction to Conservation Genetics. Segunda edición. USA: Cambridge University Press.

Freeland, J. R., Kirk, H. y Petersen, S. D., (2011). *Molecular Ecology*. Segunda ed. Oxford: WILEY-BLACKWELL.

Fujino K. y t. Kang (1968). Transferrin groups of tunas. *Genetics* 59: 79-91.

Glaubitz, J. C. (2004). CONVERT: A user-friendly program ro reformat diploid genotypic data for commonly used population genetics software packets. *Mol. Ecol.* 4(2): 309-310.

Godsil H. C. (1948). A preliminary Population Study of the Yellowfin Tuna and the Albacore. California Department of Natural Resources Division of Fish and Game Bureau of Marine Fisheries. Fish. bull. No. 70.

Godsil H. C. y E.C. Greenhood (1951). A comparison of the comparison of yellowfin tuna (*Neothunnus macropterus*). California Department of Natural Resources Division of Fish and Game Bureau of Marine Fisheries. Fish bull. No. 82

Gonzalez E.G., Beerli P. y R. Zardoya (2008). Genetic structuring and migration patterns of Atlantic bigeye tuna *Thunnus obesus* (Lowe, 1839). *BMC Evol. Biol.* 8 (252): 1-14.

Goudet J. (2002). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices, version 2.9.3. En: [<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>].
último acceso: Diciembre 2011.

Goudet J. (2004). PCAGEN (computer program). En:
[<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/pcagen.htm>]

Graham Jeffrey B. y Kathryn A. Dickson (2004). Tuna comparative physiology. *J. Exp. Biol.* 207: 4015-4024.

Grant W.S., García-Marín y F. M. Utter (1999). Defining Population Boundaries for Fishery Management en *Genetics in Sustainable Fisheries Management*. Editado por Saleem Mustafa. Oxford: New Books.

Grewe P.M., Appleyard S.A. y R.D. Ward (2000). Determining genetic stock structure of bigeye tuna in the Indian Ocean using mitochondrial DNA and DNA microsatellites. Report for the Fisheries Research and Development Corporation FRDC No. 97/122.

Gross Grant M. y E. Gross (1972). Oceanography: A View of Earth. Séptima ed. Prentice Hall.

Gupta, P. K. (2007). Genetics Classical to modern. India: GANGOTRY.

Hampton J., Kleiber P., Langley A. y K. Hiramatsu (2004). 17th Meeting of THE Standing Committee on Tuna and Billfish. Marshall Islands.

Hardy O. J. y X. Vekemans (2002). SPAGeDi 1.3: a versatil computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. Mol. Ecol. Notes 2: 618-620.

Hauser L. y R.D. Ward (1998). Populaion identification in pelagic fishes: the limit of molecular markers en: Advances in molecular ecology . Editado por Carvalho G. Sicilia: IOS press.

Hedrick P.W. (2011). Genetic of populations. Cuarta ed. E.U.A.: Jones and Bartlett.

Höglund, J. (2009). Evolutionary Conservation Genetics. Nueva York: Oxford University Press.

Itano D.G. (2000). The reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in hawaiian waters and the western tropical Pacific Ocean: Project Summary. Join Institute for marine and atmospheric research

Joseph James, Alverson Franklin G., Fink D. Bernard y E. B. Davidoff (1964). Una revisión de la estructura de la estructura de la población del atún aleta amarilla *Thunnus albacares* En el océano Pacífico oriental. La Jolla: Comisión Interamericana del Atún Tropical Bol. Vol.9 No. 2.

Kennish J. Michael (2001). Practical Handbook of Marine Science. Tercera ed. CRC Press.

Klimley A. P. y C.F. Holloway. (1999). School fidelity and homing synchronicity of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. Mar. Biol 133: 307-317.

Laikre L., Palm S. y N, Ryman (2005). Genetic Population Structure of Fishes: Implications for coastal Zone Management. AMBIO 34(2): 111-119.

Laird Peter W., Zijderveld, Linders Koert, Rudnicki Michael A., Jaenish Rudolf y B. Anton (1991). Simplified mammalian DNA isolation procedure. Nucleic. Acids. Res. 19(15): 4293.

Langley Adam, Hoyle Simon y John Hampton (2011). Stock assessment of yellowfin tuna in the western and central Pacific ocean. Pohnpei: Scientific committee seventh regular session. Western and central Pacific Fisheries Commission (WCPFC).

Larson R.J. y R.M. Julian (1999). Spatial and temporal genetic patchiness in marine populations and their implications for fisheries management. CalCOFI. 40: 94-99.

Lehoey P. y B. Leroy (1999). Age and growth of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the western and central Pacific ocean as indicated by daily growth increments and tagging data. Nueva Caldedonia: Oceanic Fisheries Programme Secretariat of Pacific Community .

Lessios H.A. y D.R. Robertson (2006). Crossing the impassable: genetic conections in 20 reef fishes across the eastern Pacific barrier. Proc R. Soc. 273: 2201-2208.

Liu Z.J. y J.F. Cordes (2004). DNA marker technologies and their aplications in aquaculture genetics. Aquaculture. 238: 1-37.

Majkowsky, J., 2007. Global fishery resources of tuna and tuna-like species, Roma: FAO Fisheries Technical Paper.

Martínez P. (2005).Aplicaciones de la genética para mejora de la acuicultura. Bol. Inst. Ocean. 21: 225-238.

McDowell J. R., Díaz Jaimes P. y J.E. Graves (2002). Isolation and characterization of seven tetranucleotide microsatellite *loci* from Atlantic northern bluefin tuna *Thunnus thynnus thynnus*. Mol. Ecol. Notes 2: 214-216.

Morales Villegas H. (2009). Estructura genética del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en el océano Pacífico oriental, obtenida mediante microsatélites. Tesis de licenciatura para obtener el grado de biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México UNAM.

Mustafa S. (1999). Genetics in Sustainable Fisheries Management. Oxford: Fishing News Books.

Noguez Fuentes J.F., M.J. Dreyfus León y H. Robles Ruiz (2007). Análisis de la pesca de atún con palangre en el Golfo de México durante las fases de luna llena y nueva. Hidrobiológica 17 (2) : 91-99.

Nunney L. (2001). Population Structure. En: Evolutionary Ecology Concepts and case studies . Editado por Fox C.W., Roff D.A. y D.J. Fairbairn. Nueva York: Oxford University Press.

Pritchard, J. K., Stephens, M., y P. Donnelly (2000). Inference of population structure using multi *locus* genotype data. Genetics. 155:945-959

Qiu F. y M. Miyamoto (2011). Use of Nuclear DNA Data to Estimate Genetic Diversity and Population Size in Pacific Bluefin and Yellowfin tuna (*Thunnus orientalis* and *T. albacares*). Copeia. 2: 264-269

Raymond M. and Rousset F (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. Heredity, 86:248-249

Reed D. H. y R. Frankham (2003). Correlation between Fitness and Genetic Diversity. Conserv. Biol. 17 (1): 230-237

Rice W.J. (1989). Analysing tables of statistical test. Evolution 43: 223-225

Rieman B.E. y F.W. Allendorf (2001). Effective Population Size and Genetic Conservation Criteria for Bull Trout. *N. Am. J Fish Manage.* 21: 756-764

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

Raymond M. y F. Rousset (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283

Rousset F. (2008). Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resour.* 8: 103-106.

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 (4): 690-698.

Selkoe K. A. y R. J. Toonen (2006). Microsatellites for ecologist: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol. Lett.* 9:615-629

Shukla, A. N. (2009). Populations genetics. Primera ed. Delhi: Discovery.

Spooner, D. M., van Treuren y M.C. de Vicente (2005) . Overview of molecular technologies. En: *Molecular markers for genebank management*. Roma: International Plant Genetic Resources Institute

Stepien C. A., Dillon A.K. y A.K. Paterson (2000). Population genetics, phylogeography, and systematics of the thornyhead rockfishes (*sebastolobus*) along the deep continental slopes of the North Pacific Ocean. *Can J. Fish Aquat. Sci.* 57:1701-1717

Sun C., Wein J. W. y Su-Zah Yeh (2005). Reproductive biology of the female yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western Pacific Ocean. Primer encuentro del comité científico de la comisión de pesquerías del Pacífico central y occidental (WCPFC-SC1).

Talley L.D., Pickard G.L., Emery W.J. y J. H. Swift (2011). *Descriptive Physical Oceanography: an introduction*. Sexta ed. E.U.A.: Elviesier

- Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Willis P.M. y P. Shipley (2004). MICROCHECKER: software for identifying and correction genotypic errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes.* 4: 535-538
- van Oppen, M. J. H., Rico, C. y G.M. Hewitt (2000) . Extensive Homoplasy, Nonstepwise Mutations, and Shared Ancestral Polymorphism at a Complex Microsatellite *Locus* in Lake Malawi Cichlids. *Mol. Biol. Evol.* , 17(4): 489-498.
- Walsh P.J., Smith S.L., Fleming L.E., Solo-Gabrielle H. and W. Gerwick (2008). Oceans and human health risks and remedies from the seas. E.U.A.: Academic Press
- Waples R. S. (1998). Separating the Wheat from chaff: Patterns of Genetic differentiation in High Gene Flow Species. *Heredity.* 89: 438-450
- Ward. R. D., Elliott N. G., Grewe P. M. y A. J. S Molenski. (1994). Allozyme and mitochondrial DNA variation in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the Pacific Ocean. *Mar. Biol.* 118. 531-539
- Ward R. D. (2000). Genetics in fisheries management. *Hydrobiología.* 420 (1): 191-291
- WCPFC. Western and Central Pacific Fisheries Commission (2011). Tuna Fishery Yearbook 2010. Micronesia
- Weells D., Rooker J.R. y D. G. Itano (2011). Nursery origin of yellowfin tuna in hawaiian islands. *PFRP.* 15 (1): 1-5
- Zhang, M. J. M. y. D. (2004). Pacific oceans circulation rebounds. *Geophys. Res. Lett.* 31(118301):1-4.

Apéndices

Apéndice I

Método de extracción de ADN

Se etiquetan tantos tubos, como muestras se desean extraer.

Se llenan los tubos con 500 µl del amortiguador Chris-lysis (100mM. Tris HCl pH 8.5, 5mM, 0.2% SDS, 200mM , NaCl) que eliminará grasas y proteínas.

Se corta finamente el tejido con la ayuda de un bisturí y pinzas, procurando se tome la misma cantidad de muestra para cada extracción.

Se vierte el tejido cortado a los tubos con Crys-Lysis y se colocan en hielo.

Se agregan 15 µl de enzima proteinasa K (Invitrogen) a cada tubo con muestra.

Se colocan las muestras a baño María con agitación constante a 56°C durante aproximadamente 3 horas o hasta que el tejido se haya desecho completamente. Como alternativa se pueden dejar las muestras durante toda la noche a 37°C

Se etiquetan nuevos tubos (uno por cada muestra).

Se agregan 500 µl de isopropanol a cada tubo.

Una vez desecho el tejido se centrifugan las muestras durante 5min. 8000rpm

El sobrenadante de los tubos con muestra se agrega a los tubos con isopropanol.

Se centrifuga nuevamente a 8000rpm durante 5 min.

Se desecha el isopropanol.

Se agregan 50 µl de etanol (95%) a cada muestra.

Se centrifuga durante 5min. a 8000 rpm

Se desecha el etanol.

Se dejan secar los tubos en una cámara de vacío por aproximadamente 10 min (hasta que sequen completamente).

17) Se adhiere de 50-150 μ l del amortiguador TE (10 mM Tris HCl) dependiendo del tamaño del pellet*⁵

Apéndice II

En el presente apéndice se describe la realización de cada uno de los AMOVA realizados.

En el primer AMOVA se agruparon a las poblaciones de acuerdo a su ubicación geográfica en el océano Pacífico (oriental, central y occidental).

Al encontrarse diferencias que congruente a los resultados de Morales 2009 y Díaz *et al.*, 2006 indican señales de diferenciación genética entre individuos de atún aleta amarilla de la zona sur y norte del OPO se realizaron análisis comparando a las localidades al norte y sur del Pacífico oriental de manera independiente, con la finalidad de evaluar si, de encontrarse diferencias entre regiones (occidental, central y oriental), éstas son atribuidas a una zona en particular (sur o norte). De esta forma, se hizo un análisis excluyendo a la región sur del OPO, y se comparó a la región norte del OPO con la central y occidental. En otro análisis, se excluyó a la región nororiental y se comparó la región suroriental, con la central y occidental.

En las siguientes comparaciones se excluyó la región central, con la finalidad de maximizar el poder de resolución del análisis, al ser éste sensible a que cada grupo contenga el mismo número de localidades (Fitzpatrick 2009) y de esta manera evaluar las posible heterogeneidad entre las regiones oriental y occidental del Pacífico. Algunas pruebas adicionales se realizaron excluyendo la región central y comparando a la región sur del

⁵ * *pellet* en español se traduce como bola pequeña, en este caso pellet es el conglomerado de ADN que queda en el fondo de los tubos durante la extracción.

OPO con la occidental, y la región norte del OPO con la occidental. De forma alternativa, en otro análisis se comparó la región oriental (norte y sur agrupadas) con la occidental.

Por último y con base a la actual agrupación de las UP para el atún aleta amarilla, dónde se considera que la región occidental y central del Pacífico conforman una unidad homogénea, se realizó un séptimo AMOVA agrupando a la región occidental con la central, comparando a este grupo con la zona oriental.

Apéndice III

Se muestran los análisis de AMOVA que se realizaron desagrupando a la región oriental en norte y sur para ser comparada con la central y occidental e independientemente con sólo la zona occidental. Puede observarse que en estas comparaciones no se encontraron valores significativos ($P= 0.05$) para la diferencia entre grupos (Tabla 9).

Origen de la variación	% variación	Índices de fijación	F- estadístico	P
Oriental norte-central-occidental				
Entre grupos	0.1609	F_{CT}	0.00161	0.32941
Entre poblaciones dentro de los grupos	0.24438	F_{SC}	0.00245	0.20703
Dentro de las poblaciones	99.59470	F_{ST}	0.00405	0.06366
Oriental sur-central-occidental				
Entre grupos	0.52392	F_{CT}	0.00524	0.14733
Entre poblaciones dentro de los grupos	0.47454	F_{SC}	0.00477	0.06851
Dentro de las poblaciones	99.00154	F_{ST}	0.00998	0.00010
Oriental norte-occidental				
Entre grupos	0.31829	F_{CT}	0.00318	0.11604
Entre poblaciones dentro de los grupos	0.24512	F_{SC}	0.00246	0.2100
Dentro de las poblaciones	99.43659	F_{ST}	0.00563	0.04950
Oriental sur-occidental				
Entre grupos	0.65181	F_{CT}	0.00652	0.12812
Entre poblaciones dentro de los grupos	0.47750	F_{SC}	0.00481	0.06743
Dentro de las poblaciones	98.87069	F_{ST}	0.01129	0.00149