Diferentes patrones biológicos y de diversidad genética muestran una común ausencia de diferenciación poblacional en la Macaronesia para el peto, *Acanthocybium solandri*, y el rascacio de profundidad, *Pontinus kuhlii*.

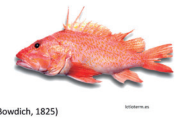
Javier Quinteiro[1], Dailos Hernández-Reyes[2], Gonzalo Tejera[3], Rocío Arenas[3], José A. González[3], Mafalda Freitas[4], Sandra Correia[5], Albertino Martins[5], Evandro Lopes[6], Nieves González-Henríquez[2]

[1] Universidade de Santiago de Compostela. Laboratorio SISMOL. Departamento de Bioquímica y Bioloxía Molecular. Campus Vida. CIBUS.
[2] Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Laboratorio BioMol. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias del Mar.
[3] Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias del Mar.
[4] Estação de Biologia Marinha do Funchal. Madeira.
[5] Instituto Nacional de Desenvolvimento das Pescas (INDP), Mindelo, Cabo Verde.
[6] Universidade de Cabo Verde, Faculdade de Engenharia e Ciências do Mar, Mindelo, Cabo Verde.
E-mail autor: javier.quinteiro@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La biología de los peces marinos se considera determinante, en gran medida, de los niveles de flujo génico entre poblaciones conespecíficas. Su rango de distribución, su naturaleza pelágica o bentónica, sus pautas migratorias o hábitos territoriales, su comportamiento reproductivo, su capacidad dispersiva en estadios larvarios, su demografía poblacional, son factores que permiten predecir, con cierta fiabilidad, los niveles de flujo génico interpoblacional.
El peto, ***Acanthocybium solandri* (Cuvier, 1831),** se distribuye por aguas tropicales y subtropicales del Atlántico, Pacífico e Índico, incluyendo el Mediterráneo. Excepto en Samoa, no existe una captura industrial del peto, dándose una pesca artesanal y deportiva (Collette & Nauen 1983). En el Atlántico oriental la reproducción ocurre de mayo a agosto. En esta especie no se ha detectado variabilidad morfológica o ecológica a lo largo de su rango de distribución.
El rascacio de profundidad o gallineta, **Pontinus kuhlii (Bowdich, 1825),** incluye en su área de distribución los archipiélagos macaronésicos, en un rango que se extiende desde Portugal al Golfo de Guinea e incluye el Mar Mediterráneo.

En este trabajo se evalúan y comparan los patrones de diversidad genética, tanto previamente disponibles como obtenidos en el presente estudio, en dos especies de peces marinos, con biologías ampliamente diferenciadas, y a lo largo del mismo rango geográfico.



Pontinus kuhlii (Bowdich, 1825)

Acanthocybium solandri (Cuvier, 1831)

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron obtenidas muestras de tejido muscular de peto, *Acanthocybium solandri*, capturados por medio de actividad pesquera artesanal en aguas de Canarias y Cabo Verde (Atlántico oriental) (N=63). En el caso de *Pontinus kuhlii*, se obtuvo una además muestra de Madeira (N=44).
El ADN total fue extraído a partir de muestras musculares, preservadas en etanol y refrigeración hasta su análisis.
Un fragmento del extremo 5' hipervariable de la región control del ADN mitocondrial fue amplificado con los primers L15998 y ScreF1-Pro (no pub.), para *A. solandri* y *P. kuhnii*, respectivamente; y CSDH (Alvarado-Bremer et al 1996).
El aislamiento de ADN, amplificación y secuenciación fue llevado a cabo mediante protocolos estándar (Quinteiro et al 2012).
La estimación de diversidad genética y análisis de la estructura poblacional fueron llevados a cabo con DnaSP (Librado & Rozas 2009) y Arlequin (Excoffier et al 2005). Para la inferencia de las relaciones filogenéticas entre los haplotipos fue usado MEGA7 (Kumar et al 2008).

Tabla 1. Muestras analizadas y valores básicos de diversidad genética.

Población	N (este estudio)	N	Nº haplotipos	*h*	*π*	Referencia
Acanthocybium solandri						
Islas Canarias	44	44	40	0,9947	0,0926	Este estudio
Cabo Verde	19	19	18	0,9942	0,1050	Este estudio
Bahamas		45	43	0,9980	0,0893	Garber et al. 2005
North Carolina		23	23	1	0,0910	Garber et al. 2005
Islas Caimán		23	22	0,9960	0,0941	Garber et al. 2005
Sur de Florida		30	30	1	0,0955	Garber et al. 2005
Cayos de Florida		21	20	0,9952	0,0863	Garber et al. 2005
Norte del Golfo de Méjico		52	51	0,9992	0,0996	Garber et al. 2005
Hawaii		39	39	1	0,0988	Garber et al. 2005
Varias (Atlántico, Pacífico, Índico)		11	11	1	0,1019	Theisen et al., 2008
Pontinus kuhlii						
Azores		20	14	0,9579	0,0172	Catarino et al., 2013
Madeira	14	28	20	0,9711	0,0149	Este estudio y Catarino et al, 2013
Islas Canarias	16	16	14	0,9833	0,0155	Este estudio y Catarino et al, 2013
Cabo Verde	14	24	20	0,9819	0,0179	Este estudio y Catarino et al, 2013

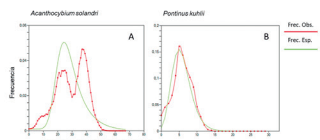


Figura 1. Distribución de diferencias entre comparaciones de pares de secuencias de la región control mitocondrial del peto, *Acanthocybium solandri*. y del rascacio de profundidad, *Pontinus kuhlii*. La línea verde presenta la distribución esperable según un modelo demográfico de población constante.

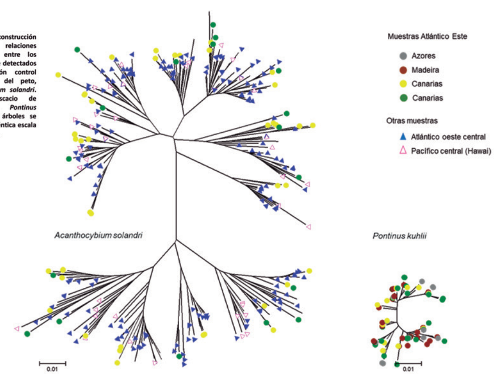
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el peto, ***A. solandri***, a partir de los datos obtenidos en el presente estudio y los recolectados del GenBank, se ha elaborado un alineamiento de 340 secuencias con una longitud de 421 pb, incluyendo 10 muestras poblacionales. Las muestras correspondientes a la población canaria y a la caboverdiana, son originales de este estudio. A nivel global la diversidad nucleotídica (π) es de 0,0812. El número de haplotipos detectados es de 287, resultando una elevada diversidad haplotípica (h) de 0,999.
En el caso del rascacio de profundidad, ***Pontinus kuhlii***, el alineamiento final incluyó 88 secuencias, de las cuales 44 fueron obtenidas en este estudio, con una longitud de 360 pb. Fueron detectados 35 sitios polimórficos, con un único indel detectado. En conjunto de los datos se detectaron 49 haplotipos, resultando en un valor de diversidad haplotípica general de 0,0972 y una diversidad nucleotídica de 0,0162. El menor valor de diversidad haplotípica se estimó para la población de Azores, dónde existe una mayor presión pesquera sobre esta especie.
El análisis de diferencias entre comparaciones de pares de secuencias muestra para ***A. solandri*** el patrón provocado por la presencia de dos grupos divergentes. Así, se observa un patrón superpuesto de los grupos con una población estable junto con la distribución debida a la divergencia entre los dos grupos divergentes. En contraste para ***P. kuhlii***, se observa un patrón de un único pico homogéneo congruente con el modelo esperado para una población con tamaño estable (Figura 1).
La reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre los haplotipos de detectados en las muestras del Atlántico Oriental, incluyendo a Canarias y Cabo Verde, y incorporado todos los datos de la región control disponibles en el GenBank para esta especie, es congruente con las topologías previamente descritas. Destaca la presencia de dos clados divergentes principales asociados a dos linajes maternales en el peto. Dentro de cada uno de ellos se observa una subdivisión de haplogrupos o clados internos (Figura 2). Los individuos aquí analizados de Canarias y Cabo Verde se agrupan en todos los haplogrupos asociados en común con los individuos de muestreos del Atlántico centro-occidental, Pacífico (Hawai) e Índico. Esto es, en cada una de las poblaciones, canarias y cabo verdianas, se detectan haplotipos representativos de toda la variabilidad global del peto.
Para el rascacio de profundidad, el árbol filogenético refleja las escasas distancias genéticas entre los haplotipos detectados, con una estructura no soportada para la mayoría de los nodos (<50%). No se observan clados soportados ni una distribución heterogénea de los haplotipos en base a su origen geográfico. Refleja, en consecuencia, una fuerte homogeneidad genética a lo largo de las zonas de muestreo en el área macaronésica (Figura 2).

La estructura genética poblacional fue evaluada por medio de un análisis de AMOVA. En el caso del peto y debido a la disposición global de muestras, se organizaron los datos en 3 grupos conteniendo muestras del Atlántico oriental, occidental y Pacífico. La mayor parte de la variación ocurre dentro de cada una las poblaciones, sin valores significativos que indiquen una diferenciación entre esos citados. Así, el valor el porcentaje de la varianza debida a diferencias entre grupos es nula y no significativa (FCT= -0,00289; % Va= - 0,29, P=0,6). En el rascacio de profundidad, una posible divergencia entre los archipiélagos de Azores, Madeira y canarias, respecto de Cabo Verde fue también evaluada mediante AMOVA. No se observó una partición significativa de la variabilidad entre ambos grupos. Así, la totalidad de la variación fue detectada dentro de las poblaciones (Tabla 2).
La diferenciación entre las poblaciones individuales fue estimada a través de los valores de F_{ST}. Lo valores de diferenciación entre las poblaciones de *A. solandri* fueron nulos y mayoritariamente no significativos. Así, por ejemplo, comparando la población canaria, con la hawaiana se obtienen un valor F_{ST} de -0,00323 no significativo (*P*=0,4775). Este valor es similar al obtenido de la comparación entre las poblaciones de Cabo Verde y Canarias (F_{ST} = -0.00850, *P*= 0.32432). En el caso de *P. kuhlii*, todos los valores de F_{ST}, indicando el grado de diferenciación entre las poblaciones muestreadas, son negativos y no significativos.

Los resultados obtenidos, indicando la homogeneidad genética de las poblaciones canaria y caboverdiana del peto, representativas del Atlántico oriental, son congruentes con la hipótesis previa de una población global, genéticamente variable, y con un elevado flujo génico actual entre las poblaciones aquí consideradas (Garber et al 2005, Theisen et al 2008). Aunque un análisis con marcadores más resolutivos (microsatélites o SNPs) podría encontrar cierto grado de diferenciación, el nivel de flujo génico detectado indica una ausencia de amenazas para la diversidad genética de la especie provocada por excesivos esfuerzos pesqueros locales.
La compleja estructura filogeográfica observada, con grupos diferenciados y subclados refleja la compleja historia evolutiva de una especie distribuida globalmente, con una divergencia entre clados datada en el Pleistoceno y asociada a los eventos paleoclimáticos asociados (Garber et al 2005).

Figura 2. Reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre los haplotipos de detectados de la región control mitocondrial del peto, *Acanthocybium solandri*. y del rascacio de profundidad, *Pontinus kuhlii*. Los árboles se muestra a idéntica escala de distancias.



La distribución global del peto, A. solandri, con una biología paradigmáticamente migratoria permite garantizar una ausencia de diferenciación poblacional a cualquier nivel geográfico. No obstante comportamientos filopátridas reproductivos generan, en ocasiones, diferenciaciones poblacionales también en peces altamente migratorios. En el caso del rascacio de profundidad la ausencia de diferenciación poblacional puede relacionarse con una reciente expansión poblacional y el efecto step-stone de los diversos montes submarinos dispersos por el área macaronésica.

Los análisis indican un único y homogéneo pool génico para el rascacio de profundidad, Pontinus kuhlii, en el área que abarca los archipiélagos macaronésicos y Cabo Verde. Tanto la sedentariedad de esta especie, como las diferencias en el esfuerzo pesquero en los diversos archipiélagos no conlleva una diferenciación poblacional. El incremento del tamaño muestral y la inclusión de la muestra de Canarias confirma la hipótesis previa (Catarino et al 2013) de panmictia de esta especie a lo largo de la Macaronesia.

Tabla 2. Análisis de AMOVA para evaluar la partición de la variación entre las muestras poblacionales del peto, *Acanthocybium solandri* y del rascacio de profundidad, *Pontinus kuhlii*.

Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación	*P*
Acanthocybium solandri					
Entre grupos	2	39,826	-0.05644 Va	-0.29	0.63343
Entre poblaciones dentro del grupo	6	139,744	0.12388 Vb	0.63	0.14076
Dentro de las poblaciones	287	5595,275	19.49573 Vc	99.66	0.16520
Pontinus kuhlii					
Entre grupos	1	1,433	-0,01795 Va	-0.62	0,88
Entre poblaciones dentro del grupo	2	4,332	-0,03733 Vb	-1,29	0,67
Dentro de las poblaciones	84	246,996	2,94043 Vc	101,92	1

REFERENCIAS

Alvarado-Bremer JR, Mejuto J, Greig TW, Ely B. 1996. Global population structure of the swordfish (Xiphias gladius L.) as revealed by analysis of the mitochondrial DNA control region. J.Exper.Mar.Biol.and Eco. 97: 1295-310
Catarino D, Stefanni S, Menezes GM. 2013. Size distribution and genetic diversity of the offshore rockfish (Pontinus kuhlii) from three Atlantic archipelagos and seamounts. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography 98: 160-69
Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evol Bioinform Online 1: 47-50
Kumar S, Nei M, Dudley J, Tamura K. 2008. MEGA: a biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. Brief Bioinform 9: 299-306
Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25: 1451-52
Quinteiro J, Manent P, Assuncao P. 2012. Guía de procedimientos y protocolos genéticos de especies marinas. BANGEN, programa MAC 2007-2013. Cooperación internacional. 35 pp.
Collette BB, Nauen CE. 1983. Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date. Rome: FAO. 137 pp.
Garber AF, Tringali MD, Franks JS. 2005. Population genetic and phylogeographic structure of wahoo, Acanthocybium solandri , from the western central Atlantic and central Pacific Oceans. Mar. Biol. 147: 205-14
Theisen TC, Bowen BW, Lanier W, Baldwin JD. 2008. High connectivity on a global scale in the pelagic wahoo, Acanthocybium solandri (tuna family Scombridae). Mol. Ecol. 17: 4233-47

AGRADECIMIENTOS

A los Proyectos MACAROFOOD (MAC/2.3d/015) y MARISCOMAC (MAC/2.3d/097).