DIVERSIDAD GENÉTRICA Y ESTRUCTIURA POBLACIONAL DE CABALLA (*SCOMBER COLIAS*, GMELIN, 1789) EN AGUAS DEL ATLÁNTICO Y DEL MEDITERRÁNEO

CAROLINA MEDINA ALCARAZ

Las Palmas de Gran canaria 2015





<u>Anexo I</u>

D. José Manuel Vergara Martín, SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,

CERTIFICA,

Que el Consejo de Doctores del Departamento en sesión permanente tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias*, Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo" presentada por la doctoranda D^a. Carolina Medina Alcaraz y dirigida por los Doctores Pedro Sosa Henríquez y José Juan Castro Hernández.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Art^o 6 del Reglamento para la elaboración, defensa, tribunal y evaluación de tesis doctorales de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 3 de Noviembre de 2015.

El Secretario del Departamento



<u>Anexo II</u>

Programa de doctorado en Oceanografía. Bienio 2007-2009. Con Mención de Calidad de la ANECA.

Título de la Tesis:

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (Scomber colias, Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo

Tesis Doctoral presentada por D^a Carolina Medina Alcaraz para obtener el grado de Doctor por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Dirigida por Dr. D. Pedro Sosa Henríquez Dr. D. José Juan Castro Hernández

El Director El Co-Director La Doctoranda

Las Palmas de Gran Canaria, a 9 de Noviembre de 2015



TESIS DOCTORAL

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias*, Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo

CAROLINA MEDINA ALCARAZ

LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

A mis padres, hermano y abuelos.

A Miguel.

AGRADECIMIENTOS

Esta Tesis Doctoral ha sido posible gracias a una beca de Investigación de Postgrado en Temas de Interés para la isla de Gran Canaria del Servicio de Educación concedida por el Cabildo de Gran Canaria.

Agradecer también el suministro de muestras proporcionadas gracias a la colaboración y esfuerzo desinteresado de amigos y familiares, miembros de cofradías, universidades e instituciones científicas, que han hecho posible la realización de este trabajo.

La presente Tesis Doctoral la he realizado bajo la supervisión de los Doctores Pedro Sosa Henríquez y José Juan Castro Hernández. Gracias por la confianza que depositaron en mí desde el primer momento para llevar a cabo este trabajo, por compartir sus conocimientos, por su apoyo profesional y personal, por su ayuda y la paciencia con que me han guiado estos años.

Tengo que agradecer como me acogieron en el laboratorio B117, sus conocimientos sobre las técnicas en genéticas, todos los comentarios, sugerencias y consejos que recibí durante los inicios de esta tesis de los Drs. Miguel Ángel González y Edna Amada González.

A todo el personal investigador del Departamento de Biología y de Conserjería de Ciencias del Mar de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. De manera muy especial a las chicas del B114 Leticia Curbelo (Leti), Isabel Saro (Isa), Priscila Rodríguez (Pris) por todas esas horas de trabajo en el B114 delante del ordenador, alguna en el laboratorio y esos rápidos almuerzos en el B5.

Gracias también a Ruth Sarmiento por su amistad, ayuda, apoyo y ánimos en los últimos y difíciles momentos de esta tesis que hemos compartido en el laboratorio entre "bichitos y ADN" y mucho trabajo. Agradecer también a Marta Sarmiento por darle un elegante toque de diseño a este trabajo.

Un especial agradecimiento tanto en el laboratorio como fuera de él:

A Elisabeth Rivero, gracias por su ayuda, apoyo e incondicional amistad desde el momento en que nos conocimos y por estar siempre ahí, aunque estemos lejos.

Al Dr. Aridane González y amigo, por tenderme una mano desde la distancia, sus ánimos, apoyo y por contagiarme ese entusiasmo que siente por la ciencia y reponder siempre que se le pide ayuda.

Y fuera del mundo científico, quiero agradecer enormemente el apoyo de mis amigos y familiares. A la gente de Granada, a mis "itañolas", a los que están fuera...Ya sabéis quienes sois.

Tenía que reservar unas líneas para mostrar un gran agradecimiento para los que más quiero mi FAMILIA,

A mi familia adoptiva, en especial para Lourdes, Miguel y Eulogia, por tratarme mejor que a una hija o una nieta, por acogerme, apoyarme y por todo su cariño. A mis abuelos y padrinos, por ser como unos padres para mí, unos modelos a seguir, educarme, cuidarme, quererme incondicionalmente y animarme a seguir siempre adelante. Abuelo, espero que estés orgulloso de mí. No te olvidaré.

A mi hermano Alex, por su apoyo, cariño, por esas ganas incansables de que vuelva a casa para pasar un rato juntos, aunque fuese entrenando, y por sus ánimos. Gracias también por arreglarme y actualizarme el ordenador cada vez que se volvía loco.

A mis padres por hacer posible lo que soy hoy, por apoyarme en mi idea de ser "científica" y en mi gran aventura de estudiar a 2500 km, aunque seguramente sufriendo por dentro. Gracias por vuestro esfuerzo y dedicación, por estar siempre ahí ayudándome, escuchándome y animándome tanto en mis buenos como malos momentos y seguir cada uno de mis pasos. Por acercarme Granada con esos paquetes al vació durante todos estos años y recibirme siempre con tanto cariño cada vez que vuelvo a casa.

A Miguel, porque esta tesis en parte es suya también, ya que juntos hemos compartido TODO desde que empezamos esta aventura, nuestra aventura. Por ayudarme a superar los contratiempos que se nos planteaban y por todos esos momentos de felicidad que me ha regalado, sin olvidar a Daga.

Por último, agradecer a todas aquellas personas que de forma directa o indirecta han contribuido a llegar a este momento....MUCHAS GRACIAS.

RESUMEN

En este estudio se determinó el patrón de diversidad y diferenciación genética de las poblaciones naturales de caballa (*Scomber colias*, Gmelin1789) en el Atlántico y Mediterráneo Occidental. Para ello, se utilizaron ocho marcadores moleculares (microsatélites) y se analizaron 604 individuos procedentes de 14 puntos de muestreo. Todas las poblaciones se encontraban en desequilibrio de Hardy-Weinberg, presentando un déficit de heterocigóticos, debido posiblemente a la existencia de una subestructuración genética de las poblaciones, ya que durante las migraciones de los peces pelágicos tiene lugar la formación de cardúmenes, los cuales están constituidos por el reclutamiento de ejemplares de distintas cohortes.

Los niveles de diversidad genética detectados en las áreas estudiadas fueron considerablemente elevados, siendo levemente superiores en el área del Mediterráneo Occidental, debido posiblemente a un flujo génico hacia el interior del Mar Mediterráneo desde las poblaciones localizadas en el Atlántico Noreste, albergando así mayores niveles de variabilidad genética.

El análisis de los marcadores moleculares evidenció también una sutil, pero significativa diferenciación genética entre las poblaciones y las áreas estudiadas, detectándose tres grandes agrupaciones genéticas. Estos agrupamientos parecen depender de la oceanografía de las áreas tales como remolinos, filamentos y afloramientos, jugando un papel predominante en la distribución de huevos y larvas de *S. colias*, así como de las inestabilidades demográficas, reclutamientos locales y migraciones de adultos.

Los resultados obtenidos han permitido disponer de un mayor conocimiento sobre la estructura y genética poblacional de *S. colias* en el océano Atlántico y mar Mediterráneo que, junto con la integración de datos de otras disciplinas, nos ha permitido elaborar un conjunto de recomendaciones para la gestión de este importante recurso pelágico.

ÍNDICE

RESUMEN	XV
ÍNDICE	xvii
LISTADO DE TABLAS	xxi
LISTADO DE FIGURAS	XXV
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Caballa del Atlántico, Scomber colias	3
1.2. Interés pesquero	5
1.3. La genética y la identificación de poblaciones	pelágicas
pesqueras	7
1.4. Antecedentes y estado actual de las investigaciones	
genéticas	11
2. OBJETIVOS	17
3. MATERIAL Y MÉTODOS	21
3.1.Zona de muestreo	23
3.2. Estandarización del método de conservación	26
3.3. Extracción y purificación de ADN	27
3.3.1. Protocolo de extracción	27
3.3.2. Purificación	28
3.4. Cebadores de amplificación utilizados	29
3.5. Análisis estadísticos	33

xvii

xviii

4. RES	ULTADOS	39
4.1.Estan	darización del método de conservación	41
4.2. Ceba	adores funcionales	43
4.3. Frecu	iencias génicas	43
4.3.1.	. Alelos nulos	52
4.3.2.	. Locus bajo selección	55
4.3.3.	Niveles de variabilidad genética	57
i.	Variabilidad genética por locus	57
ii	Variabilidad genética por población	57
ii	i. Variabilidad genética por área	59
iv	.Equilibrio de Hardy-Weinberg y Desequilibrio	de
Ligan	niento	61
4.4. Difer	renciación y estructura genética	64
4.4.1. C	oeficiente de diferenciación genética y distancia	
gené	tica	64
4.4.2. Der	ndrogramas de diferenciación y distancia	
gené	tica	66
4.4.3. Ana	álisis de Coordenadas Principales	71
4.4.4. A	nálisis de Inferencia Bayesiana	73
4.4.5. Ana	álisis Molecular de la Varianza	78
4.4.6. Ais	lamiento por distancia	81

4.4.	7. Detección de cuellos de botella	84
5.	DISCUSIÓN	89
5.1.	Elección del tejido y tamaño muestral	91
5.2.	Microsatélites utilizados	93
5.3.	Alelos bajo selección y alelos nulos	94
5.4.	Equilibrio de Hardy-Weinberg	97
5.5.	Diversidad genética	99
5.6.	Diferenciación y estructura genética	103
5.7.	Recomendaciones para la conservación y gestión	113
6.	CONCLUSIONES	117
7.	BIBLIOGRAFÍA/ANEXOS	123
	Anexo I. Frecuencias alélicas en Scomber colias	169
	Anexo II. Coeficientes de diferenciación sin corrección	de los
	alelos nulos	173
	Anexo III. Asignación bayesiana sin loci bajo selección	175
	Anexo IV. Resultados sin los loci Scja01 y Scja07	177

LISTADO DE TABLAS

- Tabla 5. Microsatélites con amplificación positiva y polimorfismo para la especie Scomber colias. Se indica el nombre del locus, motivo, secuencia del cebador forward (F) y reverse (R), temperatura de hibridación y el rango de longitud en pares de bases. Cebadores marcados D3 (Beckman Dye) y D4 (Sigma-Genosys)......44
- Tabla 6. Número de alelos encontrado en cada *locus*. Consulte la Tabla 1

 para las abreviaturas de los lugares de muestreo......49

Consulte la Tabla 1 para las abreviaturas de los lugares de muestreo.

- Tabla 19. Comparativa de la diversidad genética encontrada en distintas especies del género Scomber. Número de individuos analizados (N),

- **Tabla 21.** Coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}), encima de la diagonal y debajo de la diagonal estimación de la distancia genética (DC, Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) (Chapuis y Estoup, 2007), entre las poblaciones muestreadas de *S. colias*, sin la corrección de alelos nulos; ns: no significativo; *: p < 0,006 (ajuste de Bonferroni)....173

- **Tabla 24.** Coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}), debajo de la diagonal,con el programa FREENA, entre las poblaciones muestreadas de S.colias, sin los loci Scja01 y Scja07......177

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Scomber colias. Autor: Walter Preeitano
Figura 2. Mapa de distribución geográfica mundial para Scomber colias.
Modelado con el rango nativo basado en el escenario de emisiones
del IPCC A2. www.aquamaps.org, version de agosto de 2013.
Consultado el 6 de abril de 20154
Figura 3. Series temporales de la captura total mundial de Scomber colias en
el Océano Atlántico, Mar Mediterráneo y Mar Negro, en toneladas
Fuente: FAO7
Figura 4. Mapa de la localización geográfica donde se recogieron las
muestras de Scomber colias.Realizado con el programa Ocean Data
View
Figura 5. Hígado conservado en tampón de Urea. A la izquierda tejido recién
introducido y a la derecha el mismo tejido 15 días después (diluido)
41
Figura 6. A. Músculo conservado en tampón de Urea, etanol al 96% y etano
al 70%. B. Músculo conservado en tampón de Urea, etanol al 96% y
etanol al 70% (después de 15 días)42
Figura 7. Frecuencia de alelos nulos por locus y localidad usando e
algoritmo Expectativa de Maximización (EM) (Dempster et al
1977)
Figura 8. Resultados de la prueba de neutralidad para 8 loci microsatélites en
Scomber colias, usando el modelo de alelos infinitos (Antao et al
2008)
Figura 9. Número medio de alelos por población y por área en Scomber
colias6
Figura 10. Dendrograma NJ que agrupa las poblaciones de acuerdo al grado
de diferenciación genética (F_{ST}), con el método de corrección ENA
(Chapuis y Estoup 2007)67

- Figura 12. Dendrograma NJ que agrupa las áreas de acuerdo al grado de diferenciación genética (*F_{ST}*), con el método de corrección *ENA* (Chapuis y Estoup 2007).....70
- Figura 13. Dendrograma NJ que agrupa las áreas de acuerdo al grado de distancia genética (*DC*), con el método de corrección *INA* (Chapuis y Estoup 2007)......70

- Figura 27. Grupos estimados por STRUCTURE, para K= 2 de las áreas analizadas (N =576), sin los *loci* Scja01 y Scja03, para *Scomber colias*. CA: A. Canario; AZ: A. de Azores; NNP: C. Norte y Noroeste Peninsular; ME: C. Mediterránea......176



1.1. Caballa del Atlántico, Scomber colias

La familia *Scombridae* contiene 15 géneros y unas 51 especies de peces migratorios y epipelágicos, que se caracterizan por poseer un cuerpo alargado y fusiforme aunque moderadamente comprimido en algunos géneros (Collette *et al.* 2001) (Figura 1). Ésta familia incluye caballas, bonitos y atunes, y muestra una distribución mundial desde océanos tropicales a subtropicales (Collette 2003). *Scomber* es un género de la familia *Scombridae* y una de las especies más representativas es la caballa (*Scomber colias*, Gmelin 1789) (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000) (Figura 1).



Figura 1. Scomber colias. Autor: Walter Preeitano.

Scomber colias, es una especie que habita sobre la plataforma continental, en aguas cálidas, que se encuentra principalmente a profundidades de hasta 300 m (Collette 1986; Uriarte *et al.* 2001; Villamor *et al.* 2004). Su rango de distribución abarca las costas del océano Atlántico, así como las del mar Mediterráneo (Scoles *et al.* 1998; Collette 1999; Infante *et al.* 2007; Catanese *et al.* 2007) (Figura 2).



Figura 2. Mapa de distribución geográfica mundial para *Scomber colias*. Modelado con el rango nativo basado en el escenario de emisiones del IPCC A2. <u>www.aquamaps.org</u>, version de agosto de 2013. Consultado el 6 de abril de 2015.

Tiene un comportamiento gregario, en cardúmenes y realiza migraciones estacionales para encontrar áreas de alimentación y desove, como la mayoría de los escombridos (Collette y Nauen 1983). La caballa es una especie sin dimorfismo sexual visible y con fertilización externa (Kramer 1969). Esta especie crece rápidamente durante el primer año de vida, entre 35,4 y 62,6 % de la longitud máxima de la especie en cada área (Kiparissis et al. 2000, Perrotta et al. 2005, Velasco et al. 2011) y alcanzan la edad adulta entre los 3 y 4 años (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000). La edad máxima registrada es de 13 años en las Islas Canarias y en Azores (Lorenzo et al. 1995, Carvalho et al. 2002, Velasco et al. 2011). Normalmente, el desove se produce durante la primera mitad del año en el hemisferio norte y en la segunda mitad del año en el hemisferio sur, pero alrededor del ecuador el desove tiene lugar durante todo el año (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000). Ocupa una posición clave en la cadena trófica de los ecosistemas del océano Atlántico y mar Mediterráneo, ya que se alimenta de zooplancton, aunque los



cefalópodos y pequeños peces pelágicos, especialmente anchoas y sardinas, son también frecuentes en su dieta (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000). Se tienen evidencias de canibalismo en esta especie (Castro 1991). La caballa frecuentemente es presa de atunes, marlines, peces vela, tiburones, delfines, leones marinos y aves marinas (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000; Zardoya *et al.* 2004).

1.2. Interés pesquero

Además de su importancia a nivel trófico en los ecosistemas, posee un alto valor económico para las pesquerías de varios países (Castro-Hernández y Santana Ortega 2000). Según la FAO, en 2011 las capturas de caballa realizada a nivel mundial ascendían a 1,72 millones de toneladas, además de encontrarse ese año en quinta posición dentro de las 25 especies más pescadas. Asimismo, en el noroeste de África, la pesquería de caballa es realizada por cerqueros en las costas marroquíes, arrastreros pelágicos que operan bajo el acuerdo de pesca entre Marruecos-Federación Rusa y de otros buques fletados por operadores marroquíes, y por varios arrastreros pelágicos de diferentes países (Federación Rusa, Ucrania, Unión Europea y otros), también es considerado como "bycatch", es decir especies de descarte, por la flota artesanal senegalense (FAO 2008). En Portugal, esta especie es capturada principalmente en la pesquería de cerco dirigida a la sardina. A pesar de su escaso valor comercial, sólo es superado por la sardina en el valor total de la biomasa de desembarcos anuales y de primera venta de la pesquería (INE 2011). En Azores, la flota artesanal la incluye como una especie objetivo, pero es considerada captura "bycatch" en la pesquería demersal de palangre y
también es utilizada como cebo para el palangre de atún y en las líneas de mano (Carvalho *et al.* 2002). En las Islas Canarias, la caballa es un recurso importante para la pesquería comercial (Lorenzo *et al.* 1995, Lorenzo y Pajuelo 1996, Popescu y Ortega 2013). En el mar Mediterráneo (Erguden *et al.* 2009) y Negro, una proporción importante de *S. colias* es capturada por las flotas de Turquía (Sever *et al.* 2006), pero también es una especie de gran interés comercial para las pesquerías realizadas en aguas griegas (Kiparissis *et al.* 2000). La caballa también es uno de los principales sustentos de la flota cerquera que opera en el área del Mar del Plata (Perrotta *et al.* 2009).

La serie temporal de capturas de *S. colias* desde 1950 hasta 2011, para las diferentes áreas del océano Atlántico y aguas adyacentes mostró un claro aumento en las capturas en el área del Atlántico Central. En esos 61 años, el Atlántico Norte se ha mantenido más o menos constante vislumbrando un leve ascenso en los últimos 11 años, siendo casi 450.000 toneladas inferior al área central. En el Atlántico Sur se apreció un descenso aproximadamente desde 1980, recuperándose lentamente a partir de 2007. Las capturas tanto en el Mediterráneo como en el Mar Negro fueron muy bajas desde 1950 empezando a elevarse a casi 30.000 toneladas en 1985, siendo inestable en los años restantes y con un máximo de 112.000 toneladas en 2009 (Figura 3).





Figura 3. Series temporales de la captura total mundial de *Scomber colias* en el Océano Atlántico, Mar Mediterráneo y Mar Negro, en toneladas. Fuente: FAO.

1.3. La genética y la identificación de poblaciones pelágicas

pesqueras

La identificación de stocks de peces pelágicos constituye un componente esencial de la evaluación del estado de las pesquerías, y, por otra parte, de la gestión efectiva de pesquerías y de especies amenazadas (Fazeres 2007). Delimitar los stocks de peces es necesario para la gestión pesquera, ya que de ello depende el reparto de la captura entre pesquerías competitivas, el reconocimiento y protección de las áreas de puesta, el desarrollo de una captura óptima y de estrategias de administración (Begg *et al.* 1999a, 1999b; Begg y Waldman 1999). Dado que muchas de las especies se distribuyen, en algún momento de su vida, en stocks mezclados, es esencial identificar y cuantificar los distintos componentes de stocks que constituyen las pesquerías actuales.

La aplicación del análisis genético molecular desempeña un importante rol en la mejora de la base científica para la gestión de la pesca y para asegurar la conservación y la explotación de los recursos marinos. Los peces pelágicos son un componente sustancial de las capturas de la pesca silvestre (FAO 2014) y su aprovechamiento sostenible requiere, entre otras cosas, de una mejor comprensión de las estructuras poblacionales (Hauser y Ward 1998).

Los gestores pesqueros generalmente requieren de los análisis genéticos para ayudarles a identificar las poblaciones, pero como estos peces son propensos a sufrir extinciones y expansiones periódicas, los stocks genéticos pueden contener en realidad varios pools diferentes, y por ende constituirse en diferentes stocks. Las herramientas moleculares no pueden responder a todas las cuestiones relacionadas con la gestión de las pesquerías, pero juegan un papel importante en la identificación de problemas prácticos y conceptos erróneos en los puntos de vista actuales de la ecología de los peces pelágicos. Además, no proporcionan el conocimiento de los límites geográficos entre los stocks de autoreclutamiento, pero aportan información muy valiosa sobre las fluctuaciones naturales de su abundancia que luego se pueden incorporar en los modelos de pesca (Hilborn y Walters 1992). Así mismo, la investigación sobre las relaciones filogeográficas entre cada población puede permitir la reconstrucción de rutas de colonización y la identificación de posibles fuentes de recolonización después de la extinción de una población.

Los datos genéticos son muy útiles cuando son capaces de detectar diferencias entre poblaciones, y siempre deben observarse como una herramienta complementaria a otras disciplinas



(oceanografía, morfometría, ecología, pesca, paleontología...) en el momento de abordar cuestiones sobre las poblaciones implicadas o sobre la estructura de las poblaciones de peces pelágicos (Hauser y Ward 1998). También son importantes para investigar la estructura social dentro de las poblaciones de peces pelágicos, ya que su evolución puede verse afectada de manera significativa, por lo que la investigación sobre los efectos selectivos del reclutamiento puede proporcionar información valiosa sobre la especiación de muchos peces (Hedgecock 1994).

En la actualidad los estudios y datos genéticos han probado ser una herramienta de gran utilidad en la determinación de diferencias evolutivas entre stocks. Por ello, en el concepto de stock ya se incluyen algunas nociones sobre integridad genética (Waldman 1999), e incluso se sugiere la validez de cualquier definición que utilice marcadores heredables que permitan caracterizar un grupo específico de peces y su respectivo hábitat (Booke 1999). Las definiciones aplicadas a las pesquerías de poblaciones de peces que mantienen su integridad genética a lo largo del tiempo están generalmente mejor determinados por marcadores genéticos, al tener estos la particularidad de ser repetitivos y estables (Fazeres 2007).

Los marcadores más sensibles e hipervariables, como los microsatélites, ya se han utilizado para dar respuesta a estas preguntas (Ruzzante *et al.* 1997) y han permitido investigaciones minuciosas sobre la estructura de las poblaciones pelágicas en relación con las características hidrográficas. Desde su descubrimiento (Litt y Luty 1989; Tautz 1989; Weber y May 1989), y debido a las tasas de mutación más altas, los microsatélites, se han utilizado cada vez más

como marcadores en estudios de genética de poblaciones y de conservación, en particular, aplicados a la detección de estructura poblacional en peces pelágicos marinos (Buonaccorsi *et al.* 2001; Durand *et al.* 2005; Ruzzante *et al.* 2006).

Los microsatélites o SSR (*Simple Sequence Repeats*) son regiones hipervariables constituidas por repeticiones en tándem de unos pocos pares de bases (1 a 6), presentes en el ADN nuclear, distribuidos a lo largo de los cromosomas y cada *locus* microsatélite es identificable por un motivo de secuencia particular (Tautz y Renz 1984). Estos marcadores son muy informativos, ya que suelen ser muy polimórficos (a menudo con más de 10 alelos por población), lo que los hace considerablemente sensibles. Generalmente se encuentran en zonas no codificantes del ADN, son codominantes, neutros, poseen una alta tasa de mutación y son fácilmente amplificables mediante una PCR (Goldstein y Schlötterer 1999). Todas estas características (alta variabilidad, codominancia, fiabilidad y ubicuidad) los sitúan como uno de los mejores marcadores moleculares a utilizar a nivel infraespecífico y en ocasiones interespecífico.

En las últimas décadas se han aplicado un considerable número de marcadores genéticos y de técnicas moleculares para la estimación de la estructura de la población de peces pelágicos marinos (Graves 1998; Graves y McDowell 2003). La elección del enfoque molecular más adecuado ha dependido en gran medida de la facilidad de uso, el nivel de polimorfismo del marcador y de las características genéticas y evolutivas incluyendo el modo de herencia (biparental o materna), el nivel de ploidía, la expresión del marcador (dominante o codominante), y la mutación y de las tasas de evolución de la



divergencia (Hillis *et al.* 1996; Zhang y Hewitt 2003; Avise 2004; Schlötterer 2004). En esta segunda quincena del siglo XXI se constituye sin duda la era de la genómica, la cual ha afectado también a la investigación en pesquerías (Armada *et al.* 2009; Pomeroy *et al.* 2011; Taylor *et al.* 2011). La secuenciación masiva de genomas eucariotas y las técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS, Next Generation Secuencing), están dando lugar a una auténtica revolución en los conocimientos que disponemos de la estructura y función del genoma (Mardis 2008), en estos organismos (Huete-Pérez *et al.* 2013; Willette *et al.* 2014) y en la genética.

1.4. Antecedentes y estado actual de las investigaciones genéticas

Durante muchos años, *Scomber colias* se consideró un sinónimo de *Scomber japonicus* (Castro-Hernández y Santana Ortega 2000), por lo que la mayoría de los trabajos que se refieren a este género han sido realizados en poblaciones del océano Pacífico, y han abordado estudios relacionados fundamentalmente con su biología y taxonomía. Así, se han descrito gran cantidad de movimientos migratorios, tanto en la costa japonesa como en la americana (Schaefer 1980), mientras en el océano Atlántico, la mayor parte de los estudios sobre *S. colias* se han llevado a cabo principalmente en las aguas del suroeste del Atlántico (Cousseau *et al.* 1987; Forciniti y Perrota 1988; Perrotta *et al.* 1990, 1992, 1993, 1994, 1999, 2005; Montoya *et al.* 1997; Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000) distinguiéndose dos stocks de caballa en base a ocurrencias estacionales, comportamiento, parámetros de crecimiento, fauna parasitaria y características morfométricas. Por otro lado, se

desconoce con exactitud la magnitud de migración en el Atlántico centro-oriental (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000). Estudios recientes muestran los cambios en la abundancia y distribución espacial de S. *colias* en las aguas portuguesas y aguas españolas del golfo de Cádiz, a partir de datos de las prospecciones acústicas y de datos de la pesquería (Martins *et al.* 2013). También se han comparado la edad y patrones de crecimiento entre muestras procedentes del noreste del Atlántico y del suroeste del Mediterráneo, sugiriendo que el estrecho de Gibraltar no supone una barrera geográfica y que es una vía de comunicación importante que permite la existencia de un flujo larval entre el Atlántico y el Mediterráneo (Velasco *et al.* 2011).

Desde el punto de vista genético, los estudios en éste género son aún escasos y relativamente recientes, basándose por lo general en estudios de diferenciación entre especies y caracterización de microsatélites. Scoles et al. (1998) e Infante et al. (2007) usando la Región Control mitocondrial y el gen 5S rDNA, respectivamente, reconocieron a S. colias (en el Atlántico) como una especie separada de S. japonicus (en el Pacífico). Zardova et al. (2004), observaron diferencias en la estructuración de las poblaciones de S. japonicus (sinónimo de S. colias en el Atlántico), y S. scombrus, basado también en el análisis de ADN mitocondrial de muestras del Atlántico y Mediterráneo, observando flujo genético entre ambas cuencas para S. *colias* y un eje estructurado de este a oeste en el Mediterráneo para S. scombrus. Además, Catanese et al. (2007) revelaron un origen monofilético respecto otros escómbridos. observando а la diferenciación genética del estornino (S. colias), procedente del litoral andaluz, mediante análisis de la región mitocondrial ATCO,



encontrando divergencias entre S. colias correspondiente al área Atlántico-Mediterráneo y S. japonicus procedente del Pacífico. Quinteiro en 2010, realizó un amplio estudio sobre la filogenia molecular, estructura poblacional y trazabilidad genética en Scombridos, donde la diversidad genética de las especies analizadas no se mostró estructurada geográficamente, dado que el flujo genético es suficiente para prevenir dicha diferenciación interoceánica, salvo la caballa S. *japonicus* cuya distribución global muestra una significativa diferenciación inter e intraoceánica. Catanese et al. (2010) reportaron los genomas mitocondriales completos de S. colias, S. japonicus y S. australasicus, concluyendo que S. colias es una especie simpátrica con S. japonicus. Las relaciones filogenéticas de las especies del género Scomber fueron finalmente esclarecidas por Cheng et al. (2011), sobre la base de los marcadores Citocromo oxidasa I, Citocromo b, Región Control y 5S rDNA confirmando la monofilia del género Scomber y que S. japonicus es genéticamente más cercano a S. australasicus que a S. colias. Adicionalmente, la concordancia filogenética encontrada entre las secuencias mitocondriales y nucleares sugirieren que el océano Atlántico es el centro de origen del género Scomber y hay una sucesión de múltiples rutas de migración como principal hipótesis para explicar la actual distribución geográfica de sus especies. Recientemente, Yan et al. (2015) realizaron un estudio filogeográfico de S. japonicus en el noroeste del Pacífico, donde estudiaron la estructura genética y la historia demográfica. Las cuales fueron examinadas basándose en la secuencia completa de la Región Control mitocondrial y el Citocromo b, cuyos resultados indicaron la aislación de las poblaciones durante la era del Pleistoceno, la diferenciación genética entre las poblaciones chinas y japonesas, y la falta de estructura entre las poblaciones a lo largo de la costa de China. Afirmando además, que los acontecimientos históricos, las características biológicas y otras fuerzas extrínsecas, como las corrientes oceánicas, pueden estar asociadas con el actual patrón filogeográfico de *S. japonicus* en el noroeste del Pacífico.

La mayoría de estudios de genética poblacional han sido realizados en el Pacífico. Tzeng et al. (2007) estudiaron la estructuración poblacional de S. japonicus en el mar de Taiwán, basándose en la secuencia completa de la Región Control mitocondrial. Sus resultados mostraron escasa diferenciación genética entre las poblaciones analizadas y sugirieron la presencia de un único stock genético, en contraste con la hipótesis previa de dos stocks basada en datos morfométricos y en alozimas (Lin 1998; Tzeng y Yeh 2007). En 2014, Barahona evaluó la estructuración genética de caballa (S. japonicus) en el mar peruano, mediante la región hiperbariable I (dominio ETAS) de la Región Control mitocondrial junto a cinco marcadores microsatélites. Obtuvo resultados del marcador mitocondrial y de uno de los microsatélites, donde ambos evidenciaron una escasa diferenciación entre las poblaciones y que el recurso atravesó un proceso de expansión poblacional en el pasado. Concluvendo que la caballa peruana comprende una sola unidad panmíctica, reforzando su hipótesis inicial de un único stock pesquero.

En los últimos años se han obtenido numerosos microsatélites polimórficos en diferentes especies del género *Scomber*, tales como *S. australasicus* (Tang *et al.* 2009), *S. japonicus* (Yagishita y Kobayashi 2008; Cha *et al.* 2010; Zeng y Cheng 2012; Zeng *et al.* 2012), *S. scombrus* (Olafsdottir *et al.* 2013) y *S. colias* (Catanese *et al.* 2010),



que entre otros resultados, han demostrado la posibilidad de amplificación interespecífico en este género.

Zeng et al. (2012) mediante el análisis de 11 microsatélites, analizaron la diversidad y estructura genética de S. japonicus en el este y sur del mar de China, donde encontraron altos niveles de variación genética dentro de las poblaciones y una moderada diferenciación entre ellas. Afirmando la posible existencia de dos stocks. Papetti et al. (2013) investigaron la estructura de S. scombrus en el norte y centro del mar Adriático, mediante la integración de múltiples aproximaciones (análisis de datos pesqueros, genética de poblaciones y análisis de otolitos). Usaron 8 microsatélites que claramente apuntaron la presencia de una población panmíctica y los otros resultados mostraron un origen natal común, y un alto potencial de vulnerabilidad a colapsarse debido a la sobrepesca de los stocks en ésta área geográfica. Cheng et al. (2014) evaluaron la diversidad y estructura genética de S. *japonicus* en el mar de China, empleando 15 *loci* microsatélites generados por Zeng y Cheng (2012), gracias a los cuales encontraron una alta variación intrapoblacional y una moderada diferenciación interpoblacional, la cual estructuraba a la especie en tres grupos a lo largo de la costa de China. En otro estudio, Cheng et al. (2015) analizaron la estructura genética de las poblaciones de S. japonicus en el noroeste del Pacífico, inferida a través de 8 microsatélites, encontrando una leve pero significativa estructuración, caracterizada por el flujo genético en las áreas y por el aislamiento por distancia. Además, sus resultados evidenciaron que las características biológicas de la especie y las oceanográficas del noroeste del Pacífico, podrían ser las responsables de la diferenciación observada, así como de la homogeneidad encontrada entre las colecciones de muestras de los mares del este y sur de China.





El objetivo principal del presente trabajo es determinar el nivel de diversidad y estructura genética de las poblaciones naturales de caballa (*Scomber colias*) en el área del Atlántico y Mediterráneo Occidental, mediante la puesta a punto y desarrollo de técnicas de Biología Molecular (microsatélites), como herramienta para contribuir a la gestión adecuada y sostenible de este recurso pesquero.

Para ello, nos planteamos como objetivos específicos:

- a) Elegir el tejido de Scomber colias que mejores resultados ofreca en la extracción y análisis del ADN y escoger el procedimiento óptimo que nos permita las mejores condiciones de conservación de dichos tejidos.
- *b*) Optimizar y estandarizar los protocolos de extracción, amplificación y análisis de los marcadores nucleares, microsatélites, para Scomber colias.
- c) Analizar los niveles de variabilidad genética de diferentes unidades poblacionales de Scomber colias en el mar Mediterráneo Occidental y el océano Atlántico.
- d) Estimar el flujo génico y la estructura genética de las poblaciones naturales en dichas áreas geográficas e inferir las causas y procedimientos que pudiesen estar dando lugar a las mismas.

 e) Establecer (posibles protocolos) propuestas de actuación que impliquen una mejora en la gestión y conservación de este importante recurso pesquero en las áreas estudiadas.

Matrerial Y Métrodos



3.1. Zona de muestreo

Para este estudio, un total de 604 individuos de la especie *S. colias* fueron obtenidas a través de capturas comerciales de cerqueros artesanales, en distintas áreas geográficas, o como consecuencia de muestras cedidas por distintas instituciones y centros científicos, obtenidas en prospecciones pesqueras de otros proyectos de investigación realizados en diferentes regiones donde la especie habita.

En este sentido se procedió a un muestreo que abarca tres grandes áreas de distribución: El área del Atlántico Noreste, el área del Mediterráneo y el área del Atlántico Suroeste. El área del Atlántico Noreste incluye muestras de cinco islas del Archipiélago Canario (Gran Canaria, Tenerife, Fuerteventura, La Palma y La Gomera), además de dos localidades de Azores (São Miguel y Faial). Finalmente en este área se muestrearon tres localidades más, que fueron la costa suroriental de Portugal y dos localidades del Mar Cantábrico (Ondarroa y Vigo). Las muestras del mar Mediterráneo procedieron del mar de Alborán (Almería y Melilla) y Barcelona. Por otra parte, también se obtuvieron muestras del Mar del Plata (Argentina) en el Atlántico Suroeste (Figura 4 y Tabla 1).



Figura 4. Mapa de la localización geográfica donde se recogieron las muestras de *Scomber colias*. Realizados con el programa Ocean Data View.



Las Palmas de Gran Canaria (Islas Canarias); BA.IEO, Centro Oceanográfico de Baleares del Instituto Español de Tabla 1. Localización geográfica e instituciones que recogieron las muestras de Scomber colias. ULPGC, Universidad de Oceanografía (Islas Baleares); UVIGO, Universidad de Vigo (Galicia); AZTI, Centro Tecnológico del Mar y los Alimentos (País Vasco); UE, Universidad de Évora (Portugal); Uac, Universidad de Azores (Portugal). n, número de ejemplares estudiados.

п	50	52	30	50	26	49	12	50	4	50	50	50	49	16
Longitu	-15,733	-16,750	-17,983	-14,351	-17,063	-2,520	-29,053	-7,993	-2,416	-9,193	-2,785	1,300	-2,520	-56,931
Latitud	27,631	28,029	28,670	27,994	28,059	35,346	38,453	43,738	43,335	37,769	36,431	41,567	35,346	-36,953
Fecha	04/2009	05/2009	09/2009	04/2010	11/2010	6/2010	2/2002	3/2010	11/2009	5/2010	10/2009	7/2010	8/2010	9/2001
Coleccionado por*	ULPGC	ULPGC	ULPGC	ULPGC	ULPGC	UAc	UAc	UVIGO	AZTI	UE	ULPGC	BA,IEO	ULPGC	UAc
Abreviaturas	GC	NI	PA	FU	GO	SM	FA	IV	ΡV	Ю	AL	ЛΠ	ME	AR
Localización geográfica	Gran Canaria	Tenerife	La Palma	Fuerteventura	La Gomera	São Miguel	Faial	Vigo	Ondarroa	Sines	Almería	Vilanova	Melilla	Mar del Plata
Área de distribución geográfica	ARCHIPIÉLAGO CANARIO (CA)				ARCHIPIÉLAGO DE AZORES (AZ)		COSTA NORTE Y NOROESTE PENINSU- LAR (NNP)		COSTA MEDITERRÁNEA (ME)			COSTA MAR DEL PLATA (MP)		
Situación geográfica	ATLÁNTICO NORESTE								MEDITERRÂNEO			ATLÁNTICO SO		

3.2. Estandarización del método de conservación

Se inició la estandarización del método a partir de individuos adultos procedentes de establecimientos comerciales, de los cuales se extrajeron dos tipos de tejidos: hígado y músculo. Para la conservación de estos se probó el efecto de dos tipos de conservantes: urea y etanol. La preservación de los tejidos en etanol se realizó con dos porcentajes de pureza, al 70% (Bagley *et al.* 1999, García *et al.* 2006) y al 96% (Lamprea *et al.* 2004; Astorga 2005), y la preservación de tejido en urea consistió en un tampón con alta concentración de urea, 8M (Asahida *et al.* 1996).

Quince días después se cogieron muestras de aquellos tejidos cuyo tampón los preservó adecuadamente, se extrajo ADN por el método descrito a continuación (ver apartado 3.3.), se tomaron medidas de absorbancia en un espectrofotómetro (BECKMAN Coulter DU 530) y se comprobó la ratio A260/A280, que es un indicador de la presencia de elementos contaminantes en las muestras, como proteínas, fenoles o cloroformo. Mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa se verificó la presencia del ADN genómico extraído.

Determinado el método ideal para la conservación de los tejidos, las muestras objeto de estudio, fueron conservadas en tubos cónicos roscados de polipropileno transparente de 50 ml (DELTALAB), debidamente etiquetados. Se cubrieron en su totalidad por etanol al 96% (Lamprea *et al.* 2004; Astorga 2005), manteniéndose así hasta su análisis en el laboratorio. Además, se obtuvo una réplica de las muestras que también fueron conservadas en etanol al 96%.



3.3. Extracción y purificación de ADN

- 3.3.1. Protocolo de extracción (Asahida *et al.* 1996, modificado)
 - Se cogen 0,15 g de tejido macerado en etanol 96% en los tubos Falcon® (Marca registrada de la empresa Becton Dickinson) y se depositan en un tubo Eppendorf de 2 ml y, con la ayuda de un par de balines de acero inoxidable, el tejido sufre una rotura mecánica mediante trituración, en un molino vibratorio (RETSCH MM 301).
 - A la muestra triturada se le añaden 0,8 mg de Proteinasa K en el tubo de 2 ml y 600 μl de TNES (8 M Urea, 10 mM TrisHCl (pH 7,5), 125 mM NaCl, 10 mM EDTA, 1% SDS).
 - 3. Se introduce en una estufa, durante 16 h a 50 °C o más de 3 días a temperatura ambiente (20-25 °C).
 - Se añade 1 volumen de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) (Astorga, 2005).
 - 5. Se mezcla, por agitación, durante 15 minutos.
 - 6. Se centrifuga durante 15 minutos a 7.000 xg (rcf) = 9.000 rpm.
 - 7. Se separa el sobrenadante (fase acuosa) en tubos de 2 ml.
 - Se precipita el ADN con 2 volúmenes de etanol al 96% en 72 μl de NaCl 5M).
 - 9. Se mezcla por inversión.
 - 10. Se centrifuga 5 minutos a 12.000 xg (rcf) = 15.428 rpm.

- 11. Se descarta con cuidado el sobrenadante y se retiene el sedimento.
- 12. Se añaden 150 µl de TE (10 mM Tris-HCl pH8, 1mM EDTA).
- 13. Se resuspende el ADN en este tampón.

3.3.2. Purificación

En el procedimiento de purificación se utilizó un rango entre 150-300 ng/µl del ADN procedente de la extracción y se empleó un kit de purificación (Gene Elute PCR Clean-Up Kit SIGMA). Este kit está diseñado para realizar una rápida purificación de los productos de amplificación de PCR de cadena sencilla o de cadena doble (100 pb a 10 kb) de otros componentes de las reacciones, tales como el exceso de cebadores, nucleótidos, ADN polimerasa, aceites y sales. El procedimiento realizado es el siguiente:

- Montar la columna y acondicionarla añadiendo 0,5 ml de la solución "Column Preparation Solution" y centrifugar a 12000 g durante 30 s. Desechar el eluyente.
- Añadir la solución "Binding Solution" en una relación 5 a 1 respecto al volumen de solución de ADN a purificar. Transferir el producto a la columna acondicionada y centrifugar a 12000 - 16000 g durante 1 min. Descartar el eluyente.
- Montar la columna en un tubo limpio y añadir 0,5 ml de la solución "Wash Solution", centrifugando a 12000- 16000 g durante 1 minuto.



- Colocar la columna en un tubo limpio y centrifugar a 16000 g durante dos minutos para eliminar los restos de etanol.
- Transferir la columna a un tubo eppendorf de 1,5 ml y añadir 50 μl de "Elution Solution" o agua ultra pura a la columna. Incubar a temperatura ambiente durante 1 min.
- 6. Centrifugar la columna a 16000 g durante 1 minuto.

La concentración de ADN fue medida mediante un espectrofotómetro (BECKMAN Coulter DU 530) ya que esta molécula presenta una absorción máxima a una longitud de onda (λ) de 260 nm. Dado que las soluciones de ADN y ARN absorben parcialmente la luz a 260 nm y las que contienen proteínas hacen lo propio a 280 nm, se calculó el cociente de los valores obtenidos a 260 nm y a 280 nm (A₂₆₀/A₂₈₀) que proporciona una estimación del grado de pureza de los ácidos nucleicos. También se verificó la pureza del ADN mediante lecturas de absorción a 230 nm, región en la que se encuentran las impurezas (hidratos de carbono, péptidos, fenoles, compuestos aromáticos u otras sustancias).

3.4. Cebadores de amplificación utilizados

Los marcadores moleculares escogidos fueron los microsatélites, teniendo en cuenta sus características específicas, tal y como describe O'Connell *et al.* (1997) tras una amplia comparación de distintos marcadores moleculares, que demuestran que éstos son los más adecuados para este tipo de estudios. Los microsatélites (ms) disponen de una gran variabilidad, son marcadores codominantes y permiten además una alta reproducibilidad. Sin embargo, presentan la

desventaja de que los cebadores utilizados deben ser propios para la especie y por este motivo deben ser caracterizados para cada taxón.

Se ensayaron nueve cebadores aislados y caracterizados por Yagishita y Kobayashi (2008) para *S. japonicus* ya que, al estar ambas especies muy próximas filogenéticamente, existían muchas probabilidades de que amplificaran y funcionaran en las poblaciones naturales de *S. colias* a estudiar en este proyecto. Los cebadores fueron adquiridos en la empresa Applied Biosystems (Warrington, Cheshire, UK). En la Tabla 2 se especifican las secuencias, la longitud en pares de bases (pb) y la temperatura de hibridación (°C) reseñadas por los autores.

Tabla 2. Descripción de 9 microsatélites para *Scomber japonicus*. Se indica el nombre del marcador, motivo, secuencia del cebador forward (F) y reverse (R), temperatura de hibridación y el rango de longitud en pares de bases. Cebadores marcados **D3** (Beckman Dye) y **D4** (Sigma-Genosys).

Locus	Motivo	Secuencia del Cebador (5'-3')	T (°C)	Rango (pb)
Scja01	(GA) ₈	F: D4 CATCTCTACGTTCTCAAGGAGCTG R:GTTAATGCACCTGCAAAAATATGAG	60	243-321
Scja02	(GA) ₄₀	F: D4 CATTGCTTATGTTTCAGAGTGACTG R: CCTGATCTGTTTTTAGTGAATGTCC	62	264-399
Scja03	(GT)8(GA7)	F: D4 ACATGTAGGCAATGTTACAGAGTGA R: GCTGACCCTCCCTTTTACTTG	60	236-277
Scja04	(TA) ₁₃ ~(CA) ₆ ~(GA) ₂₁	F: D4 GCCTGAGTTTGATATTGTTATTGCT R: GGCCCACTATAATTTCAGTTCA	62	162-212
Scja05	(CT) ₁₆ CC(CT) ₅ GT(CT) ₆	F: D3 CATCTGCAGGTACCCACTATAAATAA R: CTATGAGCGTGTGCGTGAGT	63	153-192
Scja06	(CA) ₁₃	F: D3 CTCCAGTGTTTCTTTGTGCTTG R: GAAAGGAGACTCGAGGGAAGAT	58	187-242
Scja07	(CA) ₁₉	F: D3 TCACCCTCACTACCAAGAGTTAGTC R: GCTGTTTTCTGCTGATGTAATGAAT	60	123-200
Scja08	(GT) ₈	F: D3 GTAGCCGACAATTCAGCTTTTT R: CAAAAACAACATAATACCAGCTCCA	60	171-213
Scja09	(GT) ₁₀	F: D4 GCTGGGAAAATACTTTAAGCTGCTAT R:AGATCAAGTATGACGGAGAGAGAGAGTT	60	203-257



Las amplificaciones de ADN se hicieron en placas Eppendorf de 96 pocillos mediante el método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Con el uso de ésta técnica se obtienen millones de copias de la región de ADN deseada, pudiendo así realizar los análisis posteriores.

En cada pocillo se depositaron los siguientes componentes:

- Aproximadamente 20 ng de ADN.

- 10 pmol de cada uno de los cebadores que delimitan la zona del ADN de interés.

- Solución Master Mix, 24 μ l (Reddy-Mix, ABgene, Surrey, UK) que incluye:

- 0,625 unidades de la enzima polimerasa termoestable (ADN Taq polimerasa).

- Tris-HCl 75mM, (NH₄)₂SO₄ 20 mM, Tween 20 0,01%.

- 1,5 mM de MgCl₂.

- 0,2 mM de dinucleótidos trifosfatos libres (dNTPs).

Las amplificaciones fueron hechas en termocicladores Eppendorf Mastercycler Gradient y MultiGene Thermal Cycler. La mezcla de amplificación se sometió a un ciclo, a 95°C durante unos 4 minutos, para conseguir la desnaturalización y la inactivación de las nucleasas y proteasas. Posteriormente, se continúa el proceso de desnaturalización a 94°C, seguida de una fase de hibridación entre 55 y 60°C, en la que se produce la unión de los cebadores a las secuencias complementarias de las hebras de ADN. Por último se finaliza con una fase de elongación que tiene lugar a 72°C, en la que actúa la enzima Taq ADN polimerasa. Estas tres fases: (i) desnaturalización a 94°C; (ii) hibridación a 55-60°C; y (iii) elongación a 72°C, se repiten durante 30 ciclos. Finalmente, se mantiene la temperatura a 72°C, durante aproximadamente 5 minutos, para terminar la síntesis de las copias que han quedado incompletas durante el proceso. Para cada juego de cebadores es necesario determinar empíricamente las condiciones óptimas de amplificación. En la Tabla 3 se especifican las condiciones finales de amplificación utilizadas para cada microsatélite.

Los productos de amplificación fueron detectados mediante un sistema de electroforesis capilar en un secuenciador ABI 3730 (NAPS Service, University of British Columbia), usando cebadores delanteros (forward) marcados con FAM (azul), VIC (verde), NED (amarillo) y PET (rojo) (Applied Biosystems). El tamaño y las secuencias de los fragmentos fueron determinados mediante el programa GENEMAPPER v 4.0 (Applied Biosystems).



	Fases modificadas									
Locus	Desnat ii	uralización nicial	Hibridación			Elongació	Fase Final			
	T (°C)	Tiempo	T (°C)	Tiempo	Т (°С)	Tiempo	N° Ciclos	T(°C)	Tiempo	
Scja 01	94	01'30''	60	30"	72	30''	30	72	05'	
Scja 03	94	01'30''	60	30"	72	30"	30	72	05'	
Scja 04	94	01'30''	55	35"	72	30"	30	72	05'	
Scja 05	94	01'30''	55	35"	72	30"	30	72	05'	
Scja 06	94	01'30''	55	35"	72	30"	30	72	05'	
Scja 07	94	01'30''	60	30"	72	30"	30	72	05'	
Scja 08	94	01'30''	60	30"	72	30''	30	72	05'	
Scja 09	94	01'30''	60	30"	72	30''	30	72	05'	

Tabla 3. Condiciones de amplificación utilizadas en cada *locus* en *Scomber colias*. Se indican las temperaturas (°C), el tiempo y el número de ciclos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

3.5. Análisis estadísticos

Los datos obtenidos para cada individuo y *locus* amplificado se incluyeron en una hoja de cálculo Excel y, a partir de ahí, se modificó el formato para hacer distintas hojas de entrada para los diferentes programas de análisis genético.

Las frecuencias genéticas de cada *locus*, localidad y área, además de la frecuencia de los alelos exclusivos fueron estimadas utilizando el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012).

La variación genética (número medio de alelos por *locus* (A), heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_E) y el porcentaje de *loci* polimórficos (P)) se calculó entre poblaciones utilizando también el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012). Para comparar adecuadamente la riqueza alélica ponderada por número de muestras (Ar) entre las poblaciones, las cuales tienen diferentes tamaños muestrales, se ha realizado un procedimiento de rarefacción mediante el software HP-Rare (Kalinowski 2005).

Se evaluó la frecuencia de alelos nulos empleando el algoritmo de Expectativa de Maximización de Dempster *et al.* (1977), por población, mediante el programa FREENA (Chapuis y Estoup 2007). Adicionalmente, se usó MICRO-CHECKER v2.23 (Van Oosterhout *et al.* 2004) para conocer si los alelos nulos podrían ser causados por errores en la genotipación, presencia de bandas numerarias (sttuters), o pérdida de alelos largos y se aplicó el ajuste de Bonferroni para comparaciones múltiples (Rice 1989).

Se verificó la neutralidad de los microsatélites, es decir que no se encuentran bajo selección, utilizando el programa LOSITAN (1.000.000 de simulaciones, un intervalo de confianza de 99,5, valor medio de F_{ST} neutral forzado, submuestra X; Antao *et al.* 2008), el cual implementa el método de Beaumont y Nichols (1996), en el que considera que los niveles de endogamia que presentan *loci* neutrales deben ser iguales debido a su historia demográfica compartida. Teniendo esto en cuenta, se proyectaron todos los *loci* en una gráfica de valores de F_{ST} frente a la heterocigosidad esperada (H_E), cualquier *locus* que se aparte significativamente de esta distribución estaría bajo el efecto de la selección.

Para determinar si las poblaciones analizadas se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) se estimó la relación entre el número de individuos heterocigotos observados y el esperado, evaluado a partir del índice de endogamia (F_{IS}) por *locus* y por población, de acuerdo con el nivel de significación estadístico determinado por medio de 10.000 iteraciones según el método de Cadena de Markov Monte Carlo (MCMC) mediante el programa



GENEPOP v.4 (Rousset 2008). Además, para garantizar la segregación independiente entre los alelos de distinto *loci* se aplicó un test de probabilidad de Fisher utilizando GENEPOP v.4.0.10 (10.000 pasos de depuración, 100 lotes, 10.000 iteraciones por lote; Rousset 2008). Éste permite realizar un test de Probabilidad cuya hipótesis nula (H_o) es la unión al azar de los gametos para cada *locus*. Asimismo, en dicho programa también se analizó el desequilibrio de ligamiento de cada par de *loci* para confirmar la independencia de los microsatélites seleccionados. La significancia estadística de estas pruebas se ajustó empleando una prueba secuencial de Bonferroni.

Debido a que muchos de los microsatélites empleados en este trabajo se desviaron del equilibrio de HW, se calcularon los índices de diferenciación F_{ST} de Weir (1996) y se implementó además una corrección para la presencia de alelos nulos, mediante el programa FREENA (Chapuis y Estoup 2007). Los valores de estas matrices fueron representados en un dendrograma consenso, construido por el método del vecino más cercano, Neighbor-Joining en MEGA 4.1 Beta 3 (Kumar *et al.* 2008).

Las distancias genéticas (*DC*) Cavalli-Sforza y Edwards (1967) entre individuos y poblaciones se calcularon mediante el software POPULATION 1.2.30 BETA (Langella 2005) y también se implementó una corrección para la presencia de alelos nulos, mediante el programa FREENA (Chapuis y Estoup 2007). A partir de la matriz de datos de distancia se construyó un dendrograma con fortaleza en los agrupamientos (1.000 repeticiones). Los resultados se visualizaron en MEGA 4.1 Beta 3 (Kumar *et al.* 2008) y TreeView v.1.1.6 (Page 1996).

Para conocer el patrón de agrupamiento de todas las poblaciones en el espacio se realizó un Análisis de Coordenadas Principales (PCoA), que utilizó directamente los datos de la matriz de diferenciación genética, extrayendo la información relevante y generando así nuevas variables denominadas como coordenadas principales. Este análisis se llevó a cabo con el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012).

La estructura poblacional fue inferida por un método de agrupación bayesiana mediante el programa STRUCTURE 2.2 (Falush et al. 2007) sin información previa poblacional (suponiendo que todas las muestras pertenecen a una única población). Este programa asigna probabilísticamente el genotipo de los individuos en grupos genéticos con el fin de minimizar las desviaciones de Hardy-Weinberg y el equilibrio de ligamiento. La longitud de las iteraciones de MCMCs (Markov Chain Monte Carlo) y el proceso de "bur-in" se fijó en 1.000.000 de replicaciones y 100.000 períodos de prueba, respectivamente. Se utilizó un modelo de mezcla, que permite que los individuos tengan múltiples orígenes poblacionales (calculando su proporción de pertenencia a cada grupo), con un modelo de frecuencias correlacionadas, recomendado cuando la diferenciación genética no es muy marcada (Falush et al. 2003). El rango de posibles grupos (K) analizados estuvo entre 1 y 15, llevando a cabo análisis independientes para verificar la consistencia de los resultados entre los diferentes análisis para cada estimación de K. Se realizó el mismo análisis por áreas, pero en este caso el rango de posibles grupos (K) fue de 1 a 4.

Los resultados obtenidos en cada análisis de STRUCTURE fueron analizados en el programa STRUCTURE HARVESTER 0.6.93



(Earl 2012), que evalúa la probabilidad acumulada y posterior de los datos [Ln Pr(X/K)] para cada valor de *K* determinado. Éste infirió el valor óptimo de *K* a partir del valor modal de ΔK (Evanno *et al.* 2005) como criterio para detectar el verdadero número de grupos genéticos.

La cantidad de variabilidad genética distribuida dentro y entre las poblaciones se evaluó a partir de un análisis de varianza molecular (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) en base a las frecuencias haplotípicas con 1000 permutaciones entre diferentes regiones geográficas. El AMOVA permite determinar la cantidad de variabilidad genética contenida dentro de subgrupos, dentro de grupos y entre ellos, por medio de un análisis jerarquizado mediante porcentajes de varianza e índices de fijación, *F* de Wright (Weir y Cockerham 1984), los cuales fueron calculados con ARLEQUIN v 3.5 (Excoffier *et al.* 2010).

Se evaluó si la especie sigue un patrón de aislamiento por distancia, a través del test de Mantel, el cual realiza una correlación entre las distancias geográficas y genéticas (Mantel 1967). Las distancias geográficas en kilómetros lineales, entre los 14 puntos de muestreo, fueron calculadas con Google Earth y comparadas con una matriz de distancias linealizadas de Slatkin ($F_{ST}/1-F_{ST}$) (Slatkin y Hudson 1991) mediante 1000 pasos aleatorios en IBDWS v 3.23 (Isolation By Distance Web Service) (Jensen *et al.* 2005).

Para comprobar la existencia de eventos de deriva genética en las poblaciones, se llevó a cabo una prueba que determina posibles cuellos de botella mediante el test de Wilcoxon de doble cola de exceso de heterocigotos que se obtienen por medio del programa BOTTLENECK v1.2.02 (Piry *et al.* 1999) que calcula la probabilidad de ocurrencia de un cuello de botella en función del modelo mutacional asumido. Para ello, se utilizó el modelo TPM (Modelo de dos fases, Di Rienzo *et al.* 1994) para datos de microsatélites, que asumen que un porcentaje de las mutaciones (10%) sigue el modelo IAM (Modelo de alelos infinito), y el porcentaje restante (90%) el modelo SSM. En él se implementaron 10.000 iteraciones y la significancia estadística de esta prueba se ajustó empleando una prueba secuencial de Bonferroni. Este mismo programa proporciona una salida gráfica correspondiente al método de Cornuet y Luikart (1996). El cual es de gran utilidad para visualizar la existencia de cuellos de botella recientes, pese a que es un método cualitativo y no cuantitativo. Se basa en una representación gráfica, donde el eje X representa los intervalos de frecuencia alélicas, mientras que el eje Y se corresponde con la frecuencia acumulada de dichas frecuencias. De este modo, se puede conocer el rango de frecuencias en que se incluyen la mayoría de los alelos de la población.





4.1. Estandarización del método de conservación

Las pruebas de conservación en tampón de urea 8M de los diferentes tejidos (hígado y músculo) ponen de manifiesto la degradación de ambos tejidos, siendo especialmente notable en el hígado (Figura 5). La valoración macroscópica de los tejidos conservados puso de manifiesto las óptimas condiciones de conservación del tejido muscular en el etanol (96% y 70%) (Figura 6).



Figura 5. Hígado conservado en tampón de Urea. A la izquierda tejido recién introducido y a la derecha el mismo tejido 15 días después (diluido).


Figura 6. A. Músculo conservado en tampón de Urea, etanol al 96% y etanol al 70%. **B.** Músculo conservado en tampón de Urea, etanol al 96% y etanol al 70% (después de 15 días).

Los valores de absorbancia y concentración de ADN obtenidos por espectrofotometría tras realizar la extracción de ADN y posterior purificación de las muestras de tejido muscular conservadas en etanol (96%) y urea 8M, muestran la presencia de ADN en todas las muestras independientemente del método de conservación. Sin embargo, los valores de ratio A260/A280 indican la presencia de impurezas en el ADN obtenido en muestras conservadas en urea, ya que el cociente A_{260}/A_{280} debe de estar entre 1,8 y 2,0, valores menores contaminación proteínas indican con v valores superiores contaminación con fenoles, no siendo éste por tanto un ADN de la calidad adecuada para realizar las amplificaciones (Tabla 4).



		Abs260	Ratio (260/280)	ADN (ngr/µl)
	MuEt1	0,172	1,899	15
	MuEt2	0,098	1,994	15
MÚSCULO EtOH 96%	MuEt3	0,069	1,870	16
	MuEt4	0,061	1,850	18
	MuEt5	0,125	1,923	32
	MuU1	0,026	1,578	33
-	MuU2	0,033	1,712	26
MÚSCULO Urea8M	MuU3	0,018	1,612	137
	MuU4	0,016	1,636	325
	MuU5	0,027	1,583	203

Tabla 4. Valores de absorbancia, ratio y concentración de ADN de músculo conservado en etanol al 96% y en tampón de urea 8M. Et: etanol.

4.2. Cebadores funcionales

De los nueve microsatélites caracterizados por Yagishita y Kobayashi (2008) para *S. japonicus*, ocho (Scja01, 03, 04, 05, 06, 07, 08 y 09) dieron productos de amplificación y fueron polimórficos por lo que se seleccionaron para el análisis de las muestras (Tabla 5).

4.3. Frecuencias génicas

Tras interpretar los picos de los diferentes microsatélites para todos los individuos analizados (604), se obtuvieron los genotipos de cada ejemplar para cada *locus*. Así se identificaron los alelos más frecuentes por población, además de los alelos exclusivos de cada población (Tabla 6). Las frecuencias alélicas de todos los *loci* y poblaciones analizadas se incluyen en el Anexo I.

Tabla 5. Microsatélites con amplificación positiva y polimorfismo para la especie *Scomber colias*. Se indica el nombre del *locus*, motivo, secuencia del cebador forward (F) y reverse (R), temperatura de hibridación y el rango de longitud en pares de bases. Cebadores marcados **D3** (Beckman Dye) y **D4** (Sigma-Genosys).

Locus	Motivo	Secuencia del Cebador (5'-3')	Ta (°C)	Rango (pb)
Scja01	(GA)8	F: D4 CATCTCTACGTTCTCAAGGAGCTG R:GTTAATGCACCTGCAAAAATATGAG	60	243-321
Scja03	(GT)8(GA7)	F: D4 ACATGTAGGCAATGTTACAGAGTGA R: GCTGACCCTCCCTTTTACTTG	60	236-277
Scja04	(TA)13~(CA)6~ (GA)21	F: D4 GCCTGAGTTTGATATTGTTATTGCT R: GGCCCACTATAATTTCAGTTCA	62	162-212
Scja05	(CT)16CC(CT) 5GT(CT)6	F: D3 CATCTGCAGGTACCCACTATAAATAA R: CTATGAGCGTGTGCGTGAGT	63	153-192
Scja06	(CA)13	F: D3 CTCCAGTGTTTCTTTGTGCTTG R: GAAAGGAGACTCGAGGGAAGAT	58	187-242
Scja07	(CA)19	F: D3 TCACCCTCACTACCAAGAGTTAGTC R: GCTGTTTTCTGCTGATGTAATGAAT	60	123-200
Scja08	(GT)8	F: D3 GTAGCCGACAATTCAGCTTTTT R: CAAAAACAACATAATACCAGCTCCA	60	171-213
Scja09	(GT)10	F: D4 GCTGGGAAAATACTTTAAGCTGCTAT R:AGATCAAGTATGACGGAGAGAGAGAGTT	60	203-257

Locus Scja01: el análisis de este marcador en las poblaciones, reveló que el número de alelos considerando todas las poblaciones fue de 49, variando el rango entre 196 a 404 pares de bases. El alelo más frecuente en todas las poblaciones fue el alelo de 244 pares de bases.

Locus Scja03: el análisis dio como resultado que el número de alelos considerando todas las poblaciones fue de 35, con una variación de alelos entre 206 a 290 pares de bases. Por otro lado el alelo más frecuente es el 220.

Locus Scja04: el resultado del análisis indicó que el número de alelos considerando las catorce poblaciones fue de 59, con un rango de 136 a 221 pares de bases. Por otro lado, el alelo más frecuente varió en



función de la población tratada, siendo el 169 en Faial, el 171 para las poblaciones de Tenerife, La Palma y São Miguel, en Argentina el alelo 174, el alelo 176 para Fuerteventura, el alelo 184 en Ondarroa, el 185 para La Gomera y Vilanova, el 189 en Gran Canaria, el 193 para Almería y el de 198 en Melilla. En las siguientes poblaciones hay varios alelos que aparecen con la misma frecuencia: en Sines el 171, 182, 184, 188 y 189 y en Vigo y Fuerteventura los alelos 184 y 195.

Locus Scja05: se encontraron 34 alelos, variando el rango de 143 a 210 pares de bases. El alelo más frecuente varía en cada población, siendo los más frecuentes el 163 en São Miguel, el 174 en Melilla, el 176 en las poblaciones de Tenerife, Fuerteventura y Almería, el 178 para La Palma y Vigo y el 180 en la de Gran Canaria. En las siguientes poblaciones hay varios alelos que aparecieron con la misma frecuencia: para la población de Ondarroa el alelo 160, 168, 176 y 180, los alelos 160, 178 y 180 para Sines, en La Gomera 162 y 172, para el Mar del Plata el 162, 176, 180 y 188, en Faial el 176 y 178 y para Vilanova el 174 y 176.

Locus Scja06: el número de alelos encontrado fue de 70, con un intervalo de 186 a 279 pares de bases. Variando de nuevo el alelo más frecuente según la población, siendo el más frecuente el 186 para la poblaciónación de Faial, el 192 para la de Vigo, el 201 para la de São Miguel, el 203 para las poblaciones de La Palma, La Gomera y Vilanova, el 207 en Fuerteventura, el 208 en Melilla, el alelo 209 para la población de Ondarroa y Tenerife y el 228 para la de Gran Canaria. En las siguientes poblaciones de nuevo aparecen alelos con la misma

frecuencia: para la población de Sines el 203 y 206, en Almería el 203 y 209 y para la del Mar de Plata el 205 y 209.

Locus Scja07: el análisis muestra que el número de alelos encontrados fue de 67, con un rango de 109 a 208 pares de bases. El alelo más frecuente varió en cada población, siendo los más frecuentes el 123 en el Mar del Plata, el 125 en Gran Canaria, el 127 en la población de Almería, el 139 en La Gomera y Vigo, el 143 en Tenerife y en Sines, el alelo 150 en la de Ondarroa, el 154 y 156 en las poblaciones de La Palma y Faial respectivamente. En las poblaciones siguientes hay varios alelos que aparecieron con la misma frecuencia: en la población de Vilanova los alelos 119, 127, 133, 141, y 158, en Fuerteventura los alelos 127, 135, 139, 141, 168 y 185, en la de Melilla los alelos 129 y 141 y en la población de São Miguel los alelos 150 y 152.

Locus Scja08: el número de alelos encontrados para este marcador fue de 30, con una variación de 170 a 209 pares de bases. Por otro lado, el alelo más frecuente varió en función de la población tratada, siendo el alelo más frecuente el 179 en Vigo y Melilla, el 181 en Faial, el 186 en Fuerteventura, Almería y Vilanova, el 187 en Portugal, el 188 en las poblaciones de Tenerife, La Palma, La Gomera y São Miguel, el alelo 199 para Mar del Plata. Las poblaciones de Ondarroa y la de Gran Canaria tuvieron varios alelos con la misma frecuencia. Los alelos 186, 188 y 198 para la primera y el 188 y 191 para la segunda población.

Locus Scja09: se encontraron 36 alelos en este *locus*, con una variación de 215 a 310 pares de bases. El alelo más frecuente varió en



cada población, siendo los más frecuentes el 235 en La Palma y La Gomera, el 241 en las poblaciones de Tenerife, Sines, Vigo y São Miguel, el 243 para Gran Canaria y Mar del Plata y el 245 en la de Faial. Variando de nuevo el alelo más frecuente según la población, siendo los más frecuentes el 235 y 245 en Melilla, el 241 y 249 en la población de Almería, los alelos 243 y 245 en Vilanova y los alelos 243 y 252 para la población de Ondarroa.

Los alelos que se detectaron por población fueron los siguientes:

<u>Gran Canaria:</u> se encontró un total de 161 alelos, considerando todos los *loci*. En el *locus* Scja06 se detectó un mayor número de alelos (35), mientras que en los *loci* Scja01 y 03 se detectó el menor número de alelos (13). El alelo más frecuente es el 220 (0,500) se encontró en el *locus* Scja03.

<u>Tenerife</u>: se encontró un total de 171 alelos, considerando los ocho *loci*. En el *locus* Scja06 se detectó el mayor número de alelos (33) y en el Scja03 se detectó el menor número (11).

<u>La Palma</u>: se encontró un total de 181 alelos. En el *locus* Scja06 se detectó el mayor número de alelos (37) y el menor número de alelos se detectó en los *loci* Scja01, 03 y 08 (14).

<u>Fuerteventura</u>: se encontró un total de 164 alelos. En el *locus* Scja06 se detectó el mayor número de alelos (32) y en el *locus* Scja03 se detectó el menor número de alelos (11).

<u>La Gomera</u>: en ésta población se detectó un total de 126 alelos. En el *locus* Scja04 se encontró el mayor número de alelos (23) mientras que el *locus* Scja03 se detectó el menor número (8).

<u>Almería</u>: se encontró un total de 212 alelos, siendo este el mayor número de alelos dentro del área del Mediterráneo (ME). El mayor número de alelos (41) fue detectado en el *locus* Scja04, en el *locus* Scja03 se detectó el menor número de alelos (12).

<u>Vilanova</u>: se encontró un total de 197 alelos. El mayor número de alelos (38) se detectó en el *locus* Scja06, mientras que en los *loci* Scja01 y 03 se detectó el menor número de alelos (14).

<u>Melilla</u>: en ésta población se detectó un total de 146 alelos, siendo el menor número en el área del Mediterráneo (ME). En los *loci* Scja06, 07 se encontró el mayor número de alelos (27) mientras que el *locus* Scja01 se detectó el menor número (14).

<u>Vigo</u>: se encontró un total de 199 alelos, siendo la población con el menor número del área del Atlántico Noreste. En el *locus* Scja06 se detectaron el mayor número de alelos (42) y en el *locus* Scja03 el menor (14).

<u>Ondarroa</u>: se detectó un total de 202 alelos. El mayor número de alelos (42) fue detectado en el *locus* Scja04, mientras que el menor número de alelos (10) fue detectado en el *locus* Scja03.

<u>Sines</u>: se encontró un total de 204 alelos, siendo ésta población la que más alelos presentó en el área de la costa Norte Noroeste Peninsular. En el *locus* Scja06 se detectaron el mayor número de alelos (39) y en el *locus* Scja03 el menor (12).



Media	37,14	40,36	42,43	41,14	40,57	37,64	40	40,14
AR	15	16	15	16	11	15	15	16
FA	9	12	11	10	11	٢	11	11
SM	43	47	50	46	44	43	42	46
PO	49	50	47	50	46	48	49	50
ΡV	37	37	43	41	41	43	37	40
ΛI	46	47	50	49	48	43	47	50
ME	38	35	49	38	48	43	48	44
VIL	39	49	50	49	49	44	41	47
AL	47	49	50	49	50	50	50	50
GO	18	25	26	25	23	24	23	23
FU	40	47	49	50	46	49	49	44
ΡA	50	52	53	51	52	52	48	42
NI	45	50	51	52	50	42	50	49
GC	47	49	50	50	49	24	50	50
Locus	Scja01	Scja03	Scja04	Scja05	Scja06	Scja07	Scja08	Scja09

Tabla 6. Número de alelos encontrado en cada locus. Consulte la Tabla 1 para las abreviaturas de los lugares de muestreo.

<u>São Miguel</u>: se detectó un total de 217 alelos. Ésta población mostró el mayor número de alelos del área de Azores. El mayor número de alelos (43) fue detectado en el *locus* Scja06, mientras que el menor número de alelos (12) se encontró en el *locus* Scja03.

<u>Faial</u>: se detectó un total de 80 alelos en ésta población, siendo el menor en el archipiélago de Azores (AZ). En los *loci* Scja04 y 06 se encontraron el mayor número de alelos (15) y en el *locus* Scja01 el menor número (4).

<u>Mar del Plata</u>: se detectó un total de 120 alelos. En el *locus* Scja04 se detectó el mayor número de alelos (23) y en el *locus* Scja03 el menor (8).

En la Tabla 7 se muestra el número de alelos exclusivos y sus frecuencias por *locus* y por población. La que más alelos exclusivos presentó fue la de São Miguel (8 alelos) mientras que la de Faial no presenta ningún alelo exclusivo. Las poblaciones que presentaron un mayor número de alelos exclusivos en un mismo *locus* fueron la de La Palma (*locus* Scja04 con 3 alelos) y la de Ondarroa (*locus* Scja01 con 3 alelos). Las frecuencias de los alelos exclusivos fueron en general bajas, no superando el 3,3%, lo cual indica que aparecieron en un escaso número de individuos.



Tabla 7. Alelos exclusivos y frecuencia por locus y población. No se incluye la población de Faial ya que no se detectó ningún alelo exclusivo. Consulte la Tabla 1 para las abreviaturas de los lugares de muestreo. Frec.: Frecuencias.

					'						,															
Pob.	5	ç	Τ	Ņ.	ď	¥.	FI	n	9	0	Α	Ę	V	Ш	Μ	Э	Λ	н	М	>	PC	0	VS	V	Υ	×
Locus	Alelo	Frec.																								
	•	•	222	0,011	264	0,010	•	•	232	0,028	•	•	206	0,013	362	0,026	384	0,022	366	0,014	332	0,020	326	0,012	210	0,033
Scja 01	•	•	•	•	330	0,020	•	•	282	0,028	•	•	370	0,013	398	0,026	•	•	386	0,014	•	•	340	0,012	•	•
	•	•	•	•	•	ı	۰		۰	•	•	•	•	•	•	•	ı	•	404	0,014	•	•	ı	•	•	•
Coto 02	273	0,010	290	0,010	265	0,019	•	•	•	•	254	0,010	•	•				•	212	0,027	•	•	210	0,021	•	•
co aco	•	•	•	•	283	0,010	•	•	•	•	257	0,031	•	•	•		•	ı	•	•	ı	•	249	0,011	•	•
	•	•		•	156	0,009			•	•	213	0,010	141	0,010			216	0,010	221	0,012	165	0,011	•	•		•
Scja 04	•	•	•	•	217	0,009		•	•	•	•	•	215	0,010	•	•		•	•	•	·	•	·	•	•	•
		•	•	•	219	0,009	•	•	•	•	•	•	•	•	•				•	•	•	•	•	•		
Scja 05	210	0,010	•	•	•	•		•	•	•	•	•	•	•	•		•		•	•	•	•	155	0,022	145	0,031
Scja 06	- 1	•	•	•	•		•	•	•	•							279	0,010	•	•	•	•	•	•		•
Scja 07	•	•	•	•	•	•	188	0,010	•	•	200	0,010	208	0,011	116	0,012	179	0,023			112	0,010	181	0,012	•	•
Soin 00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	205	0,031	184	0,012	•	•
or ja vo				•	•	ı	•	•	•	•	•	•	•	•				•	•	•	•	•	170	0,012	209	0,033
Coto 00	•	•	299	0,010	•	•	•	•	•	•	310	0,010	•		•				215	0,025	277	0,010	•	•	284	0,031
ocja uz			•		ı	•		•	•	•	•		•	ı			·		•	•	279	0,010	•	•		ı

Haciendo una descripción de la frecuencia alélica por área geográfica (Anexo I):

El área del Archipiélago Canario (CA) presentó un total de 239 alelos y el mayor número de alelos exclusivos detectados (15), al compararla con las demás áreas.

El área de la Costa Mediterránea (ME) presentó un total de 555 alelos y 13 alelos exclusivos.

El área de la Costa Norte y Noroeste Peninsular (NNP) presentó el mayor número de alelos (605) al compararla con las demás áreas y 10 alelos exclusivos.

En el área del Archipiélago de Azores (AZ) presentó un total de 297 alelos y 8 alelos exclusivos.

El área de la Costa de Mar del Plata (MP) presentó el menor número de alelos (120) y de alelos exclusivos (4).

4.3.1. Alelos nulos

La frecuencia de alelos nulos para cada población y *locus* se estimó utilizando dos metodologías: 1) los algoritmos de Chakraborty *et al.* (1997) y de Brookfield (1996) incluidos en el programa MICRO-CHECKER v.2.2.3; y 2) el algoritmo Expectativa de Maximización (EM) de Dempster *et al.* (1977) del programa FREENA. El segundo método obtiene mejores resultados que los estimadores de frecuencia de alelos nulos que proporciona MICRO-CHECKER (Chapuis y Estoup 2007), se muestran por *locus* y por población en la Tabla 8.



El programa MICRO-CHECKER descartó errores en la asignación de genotipos debido a otros artefactos, tales como la pérdida completa de uno de los dos alelos en la amplificación (allelic dropout) o la presencia de elevados porcentajes de bandas tartamudas (stuttering), pero encontró evidencias de alelos nulos en todas las poblaciones.

Se encontró la presencia de alelos nulos a través de las poblaciones analizadas, en las dos metodologías, lo que explicaría el significativo déficit de heterocigotos encontrado, excepto en el *locus* Scja05 y el *locus* Scja08, lo cual coincide con el análisis del equilibrio HW, pues fueron los únicos que no presentaron una desviación significativa (Tabla 12).

Los *loci* con una mayor incidencia y frecuencia de alelos nulos en todas las poblaciones muestreadas fueron el Scja01, Scja07, los demás *loci* presentan en general, unas frecuencias de alelos nulos menores al 18% (Tabla 8 y Figura 7). **Tabla 8.** Estimación de la frecuencia de alelos nulos usando el algoritmo Expectativa de Maximización (EM) por *locus* y población (Dempster *et al.* 1977).

Localización	Scja01	Scja03	Scja04	Scja05	Scja06	Scja07	Scja08	Scja09
Gran Canaria	0,339	0,068	0,048	0	0,062	0,206	0,019	0,046
Tenerife	0,252	0,005	0,058	0	0,056	0,147	0	0,044
La Palma	0,322	0,108	0,095	0,032	0,031	0,176	0,049	0,078
Fuerteventura	0,288	0	0,048	0	0,031	0,133	0,01	0,098
La Gomera	0,187	0,031	0,056	0	0,051	0,187	0,047	0,133
Almería	0,234	0,05	0,099	0	0,075	0,091	0,024	0,078
Vilanova	0,186	0,054	0,089	0	0,022	0,111	0,014	0,068
Melilla	0,283	0,049	0,094	0	0,032	0, 177	0	0,042
Vigo	0,363	0,038	0,09	0	0,006	0,181	0,007	0,162
Ondarroa	0,240	0,049	0,121	0,046	0,017	0,134	0,047	0,092
Sines	0,321	0,041	0,078	0,017	0,018	0,094	0,006	0,120
São Miguel	0,217	0,039	0,104	0	0,014	0,071	0	0,013
Faial	0,277	0	0,110	0	0,092	0,029	0,014	0,181
Mar del Plata	0,324	0,154	0,185	0	0,134	0	0	0,107
Frecuencia	elevada> 0,2	Fre	scuencia baja	1 < 0,2				



Resultados



Figura 7. Frecuencia de alelos nulos por *locus* y localidad usando el algoritmo Expectativa de Maximización (EM) (Dempster *et al.* 1977).

4.3.2. Locus bajo selección

La prueba de neutralidad detectó que los *loci* Scja01 y Scja03 se encontraron bajo selección natural positiva o direccional. Los demás microsatélites analizados se encontraron en la región que se refiere a *loci* neutrales. Los resultados obtenidos fueron similares tanto en el modelo mutacional de alelos infinitos como en el modelo de mutación por pasos, por lo que en la Figura 8 se muestran los resultados del primero.

(Scomber colias, Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo



Figura 8. Resultados de la prueba de neutralidad para 8 loci microsatélites en Scomber colias, usando el modelo de alelos infinitos (Antao et al. 2008).

4.3.3. Niveles de variabilidad genética

El nivel de variabilidad genética de la especie se estimó teniendo en cuenta el total de muestras analizadas (Tabla 9). También se determinó por población (Tabla 10) y por cada una de las áreas geográficas consideradas (Tabla 11). En general, la diversidad genética detectada fue considerablemente elevada en todos los índices de diversidad utilizados.

i. Variabilidad genética por locus

Todos los *loci* analizados fueron polimórficos. El número medio de alelos *per locus* (*A*) fue muy elevado, variando entre 32,14 (Scja06) y 11,21 (Scja03). La heterocigosidad esperada presentó valores altos, siendo la heterocigosidad observada inferior a la esperada, lo cual explica el defecto de heterocigóticos detectados. La heterocigosidad observada media para todos los *loci* fue de 0,730, oscilando entre 0,937 (Scja05) y 0,328 (Scja01). El valor de la heterocigosidad esperada media fue 0,888, con valores muy similares en los ocho *loci* analizados, oscilando entre 0,949 (Scja04 y Scja06) y 0,727 (Scja03).

ii. Variabilidad genética por población

El número medio de alelos *per locus* (*A*) fue también alto en todas las poblaciones, variando entre 27,1 (São Miguel) y 10,6 (Faial) (Tabla 10 y Figura 9). Al estimar la riqueza alélica por rarefacción (*Ar*), la cual hace un ajuste considerando un tamaño de muestra reducido, los valores resultaron similares entre las poblaciones, oscilando entre 8,81 (São Miguel) y 7,85 (La Gomera). La heterocigosidad observada media para todas las poblaciones fue de

0,730, oscilando entre 0,789 (Melilla) y 0,662 (Faial). El valor de la heterocigosidad esperada media para todas las poblaciones fue 0,888, con valores muy similares en las catorce poblaciones estudiadas, con máximos en São Miguel ($H_E = 0,915$) y mínimos de nuevo en Faial ($H_E = 0,857$) (Tabla 10.)

Tabla 9. Diversidad genética de los ocho *loci* microsatellites analizados en la especie *Scomber colias*. Número de individuos analizados por *locus* (N), número medio de alelos por *locus* (A), riqueza alélica corregida por rarefacción (A_R), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (HE) y proporción de *loci* polimórficos (P).

Locus	N	A	A_R	H_O	H_E	Р
Scja01	37	14,143	14,398	0,328	0,822	100%
Scja03	40	11,214	10,382	0,651	0,727	100%
Scja04	42	30,429	24,269	0,775	0,949	100%
Scja05	41	19,500	17,334	0,937	0,924	100%
Scja06	41	32,143	26,810	0,861	0,949	100%
Scja07	38	28,786	24,730	0,712	0,948	100%
Scja08	40	16,143	12,718	0,849	0,891	100%
Scja09	40	18,143	16,099	0,725	0,896	100%
PROMEDIO	40	21,313	18,342	0,730	0,888	100%



Tabla 10. Parámetros de diversidad genética para las poblaciones de la especie *Scomber colias*. Número de individuos analizados por población (N), número medio de alelos por *locus* (A), riqueza alélica corregida por rarefacción (Ar), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (HE) y proporción de *loci* polimórficos (P).

Localización	Código	N	A	Ar	H_O	H_E	Р
Gran Canaria	GC	50	20,1	5,96	0,700	0,879	100%
Tenerife	TN	52	21,4	5,94	0,751	0,880	100%
La Palma	PA	55	22,7	6,00	0,675	0,884	100%
Fuerteventura	FU	50	20,5	5,97	0,760	0,887	100%
La Gomera	GO	26	15,7	5,90	0,728	0,872	100%
Almería	AL	50	26,4	6,27	0,780	0,901	100%
Vilanova	VIL	50	24,7	6,28	0,739	0,910	100%
Melilla	ME	49	18,2	6,05	0,789	0,899	100%
Vigo	VI	50	25,0	6,20	0,698	0,899	100%
Ondarroa	PV	44	25,2	6,25	0,751	0,895	100%
Sines	РО	50	25,5	6,03	0,729	0,880	100%
São Miguel	SM	50	27,1	6,44	0,740	0,915	100%
Faial	FA	12	10,6	5,97	0,662	0,857	100%
Mar del Plata	AR	16	15,0	6,17	0,713	0,879	100%
PROMEDIO		43,14	21,3	6,10	0,730	0,888	100%

iii. Variabilidad genética por área

Los valores de riqueza alélica por áreas no muestran diferencias relevantes entre ellas. La que presenta un mayor número medio de alelos por *locus*, fue la de la Costa Norte y Noroeste Peninsular (NNP) (A = 25,2) y la que presenta un menor número de alelos por *locus* fue la del Mar del Plata (MP) (A = 15,0) (Tabla 11 y

Figura 9). Siendo el área de Canarias (CA) la que posee un valor inferior de riqueza alélica corregida por rarefacción (Ar = 6,02) y el área de Azores (AZ) la que posee un valor algo superior (Ar = 6,42). El valor de la heterocigosidad media observada (H_o) para todas las áreas fue de 0,726, oscilando entre 0,769 para el Mediterráneo (ME) y 0,701 en Azores (AZ). La media de la heterocigosidad esperada (H_E) para todas las áreas alcanzó valores muy similares en las zonas estudiadas, con máximos en el Mediterráneo (ME) ($H_E = 0,900$) y mínimos en el área del Mar de Plata (MP) ($H_E = 0,879$) (Tabla 11). Así el Mediterráneo (ME) es el área con mayor diversidad de las cinco que se han analizado.

Tabla 11. Parámetros de diversidad genética según el área geográfica considerada. Número de individuos analizados por área (N), número medio de alelos por *locus* (A), riqueza alélica corregida por rarefacción (Ar), heterocigosidad observada (H_O), heterocigosidad esperada (H_E) y proporción de *loci* polimórficos (P).

Área	Código	N	A	Ar	Но	H_E	Р
Canarias	CA	231	21,2	6,02	0,723	0,882	100%
Atlántico NE	ANE	144	25,2	6,22	0,726	0,891	100%
Mediterráneo	ME	149	23,1	6,40	0,769	0,900	100%
Azores	AZ	61	18,8	6,42	0,701	0,886	100%
Atlántico SO	ASW	16	15,0	6,17	0,713	0,879	100%
PROMEDIO		120,20	20,7	6,25	0,726	0,888	100%





Figura 9. Número medio de alelos por población y por área en Scomber colias.

iv. Equilibrio de Hardy-Weinberg y Desequilibrio de

Ligamiento

Para el ajuste de las frecuencias al equilibrio de Hardy-Weinberg (HW), que supone la unión al azar de los gametos en la población analizada, y en consecuencia el apareamiento aleatorio entre los individuos de dicha población, se utilizaron tests exactos de probabilidad según el método de la cadena de Markov (Guo y Thompson 1992), implementado en el programa GENEPOP v.4 (Raymond y Rousset 1995). Para conocer el sentido y la magnitud de la desviación respecto a las condiciones de equilibrio de HW en cada *locus* (exceso o defecto de heterozigotos) se utilizó el índice de fijación F_{IS} (Wright 1969), y fue obtenido mediante el método descrito por Weir y Cockerham (1984). En la Tabla 12 se muestran los valores de F_{IS} y el grado de significación de los mismos para las poblaciones analizadas en los distintos *loci* estudiados.

Se observa que todas las poblaciones, presentaron valores de F_{IS} positivos ($F_{IS} > 0$) significativamente distintos de cero, lo que claramente indica que ninguna de las poblaciones se encontró en Hardy-Weinberg, mostrando defecto equilibrio de un de heterocigotos. De hecho de 112 casos posibles, 53 (47,3%) estaban en equilibrio de HW, mientras que 59 (52,6%) presentaron un déficit de heterocigóticos, tras la corrección de Bonferroni (p < 0,006) (Tabla 12). Los loci Scja05 y Scja08 fueron los que presentaron un mayor número de casos en equilibrio de Hardy-Weinberg (1 y 3, respectivamente, de 14 poblaciones analizadas), presentando además un menor número de alelos nulos (Tabla 8). El análisis de equilibrio de ligamiento, que estudia la segregación independiente de alelos de genes diferentes, fue significativo solamente en 52 de las 392 comparaciones a pares, es decir el 13,3% (entre *loci* y considerando las catorce poblaciones). Además, las comparaciones a pares significativas no fueron consistentes en las catorce poblaciones analizadas, señalando la independencia de los microsatélites estudiados. Basándose en estos resultados, se procedió a realizar el resto de análisis con el total de los marcadores analizados.



Tabla 12. Test de probabilidad de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg, por locus y por población, con la corrección de Bonferroni (Método de Weir y Cockerham 1984); ns: no significativo; * p < 0, 006. r

Localización				Locus					
	Scja 01	Scja 03	Scja 04	Scja 05	Scja 06	Scja 07	Scja 08	Scja 09	Multi-locus
Gran Canaria	0,761*	$0,175^{ns}$	$0,108^{\mathrm{ns}}$	$-0,013^{ns}$	0,139*	0,441*	$0,059^{ns}$	$0,105^{\mathrm{ns}}$	0,215*
Tenerife	0,559*	$0,105^{ns}$	0,120*	-0.030^{ns}	$0,128^{ns}$	0,311*	$-0,043^{ns}$	$0,108^{\mathrm{ns}}$	0,157*
La Palma	0,729*	0,274*	0,203*	$0,074^{\rm ns}$	$0,067^{ns}$	0,367*	$0,126^{\mathrm{ns}}$	0,188*	0,245*
Fuerteventura	0,631*	-0,080 ^{ns}	0,073 ^{ns}	-0,005 ^{ns}	0,077*	0,283*	$0,017^{ m ns}$	0,197*	0,154*
La Gomera	0,436*	-0.031^{IIS}	0,119*	-0,025 ^{ns}	$0,133^{\mathrm{ns}}$	0,392*	$0,131^{\mathrm{ns}}$	0,290*	0,187*
Almería	0,418*	$0,122^{ns}$	0,196*	-0,064 ^{ns}	$0,049^{ns}$	0,237*	$0,052^{\text{IIS}}$	$0,150^{\mathrm{ns}}$	0,144*
Vilanova	0,706*	$0,127^{\mathrm{ns}}$	0,170*	$0,021^{\mathrm{ns}}$	$0,047^{\rm ns}$	0,208*	$0,087^{\mathrm{ns}}$	0,250*	0,198*
Melilla	0,466*	0,145*	0,224*	-0,027*	0,021*	0,155*	0,046*	0,063*	0,134*
Vigo	0,814*	0,127*	0,196*	-0.054^{ns}	0,040*	0,379*	0,070*	0,359*	0,233*
Ondaroa	0,531*	-0,006*	0,215*	$0,026^{ns}$	0,152*	0,202*	$0,075^{ns}$	$0,163^{\mathrm{ns}}$	0,173*
Sines	0,655*	$0,167^{\mathrm{ns}}$	0,194*	$0,014^{\mathrm{ns}}$	$0,059^{ns}$	0,377*	-0.035^{IIS}	0,098 ^{ns}	0,182*
São Miguel	0,521*	$0,112^{ns}$	0,255*	0,096 ^{ns}	$0,050^{\mathrm{ns}}$	0,286*	0,087*	$0,204^{\mathrm{ns}}$	0,202*
Faial	0,800*	$0,400^{\mathrm{ns}}$	0,439*	$0,047^{ns}$	0,343*	-0.050^{ns}	$0,048^{\mathrm{ns}}$	$0,300^{\mathrm{ns}}$	0,281*
Mar del Plata	0,614*	-0,005 ^{ns}	0,260*	-0,034 ^{ns}	$0,238^{ns}$	$0,114^{\mathrm{ns}}$	$0,179^{ns}$	0,433*	0,222*
TOTAL	0,538*	0,050*	0,168*	-0,050 ^{ns}	0,023*	0,162*	-0,028 ^{ns}	0,119*	0,120*

4.4. Diferenciación y estructura genética

4.4.1. Coeficiente de diferenciación genética y distancia genética

Para evaluar la diferenciación genética entre las poblaciones y las áreas analizadas se emplearon el coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}) según Weir (1996) y la distancia genética (DC) de Cavalli-Sforza y Edwards (1967), incluidos en el método descrito por Chapuis y Estoup (2007) para el conjunto de microsatélites con alelos nulos. Los valores negativos obtenidos en ambos índices se consideraron como cero.

Al realizar los cálculos entre poblaciones, los valores de F_{ST} corregidos variaron de -0,001 (entre Gran Canaria y La Palma, así como entre Ondarroa y Almería) a 0,038 (entre Tenerife y Vilanova) (Tabla 13). Por otro lado, los valores de *DC* de Cavalli-Sforza y Edwards muestran que los valores corregidos variaron de 0,286 (entre Gran Canaria y La Palma) a 0,573 (entre Faial y Mar del Plata) (Tabla 13).

Los análisis por área mostraron que los valores de F_{ST} corregidos variaron de 0,004 (entre el ME y AZ) a 0,013 (entre CA y el ME) (Tabla 14), y que los valores de *DC* corregidos variaron de 0,278 (entre el ME y NNP) a 0,493 (entre CA y MP) (Tabla 14).



Tabla 13. Coeficiente de diferenciación genética (F_{3T}), debajo de la diagonal con el método de corrección ENA (Chapuis y Estoup, 2007) y encima de la diagonal estimación de la distancia genética (DC, Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) usando el método de corrección INA (Chapuis y Estoup, 2007), entre las poblaciones muestreadas de S. colias. _

	Bonferroni
	ijuste de
	,006 (a
-	*: p < 0
	ificativo;
	o sign
	ns: n

	Gran Canaria	lenerife	a Palma	Juerteventura	a Gomera	Almería	/ilanova	Melilla	/igo	Ondarroa	Sines	sao Miguel	aial	Mar del Plata	
AR	0,526	0,540	0,527	0,543	0,522]	0,507	0,507	0,534 1	0,508	0,501	0,524	0,498	0,573	-	
FA	0,509	0,526	0,531	0,517	0,531	0,532	0,496	0,533	0,512	0,514	0,532	0,497	•	0,005 ^{ns}	
SM	0,412	0,432	0,408	0,419	0,457	0,380	0,419	0,452	0,399	0,377	0,405	ı	$0,002^{\mathrm{ns}}$	$0,006^{ns}$	
PO	0,412	0,430	0,422	0,399	0,440	0,355	0,450	0,499	0,367	0,362	ı	0,007*	0,015*	0,013*	
PV	0,392	0,409	0,395	0,409	0,429	0,331	0,442	0,495	0,395	ı	$0,002^{ns}$	0,003 ^{ns}	$0,011^{ns}$	0,006 ^{ns}	
Ŋ	0,439	0,474	0,460	0,445	0,475	0,385	0,428	0,479	ı	0,005 ^{ns}	0,003 ^{ns}	0,005*	$0,004^{ns}$	0,007 ^{ns}	
ME	0,484	0,502	0,469	0,485	0,536	0,495	0,392		0,020*	0,027*	0,031*	0,018*	0,007	0,017*	
VIL	0,434	0,438	0,422	0,428	0,467	0,454	·	0,007 ^{ns}	0,023*	0,028*	0,035*	0,019*	0,006	0,015*	
AL	0,399	0,409	0,404	0,399	0,429	·	0,028*	0,025*	0,004 ^{ns}	-0,001 ^{ns}	$0,002^{ns}$	0,002 ^{ns}	0,009 ^{ns}	0,007 ^{ns}	dos
60	0,364	0,357	0,371	0,366	·	0,007 ^{ns}	0,034*	0,032*	0,013*	0,008 ^{ns}	*600,0	0,008 ^{ns}	$0,014^{\rm ns}$	0,014*	nás eleva
FU	0,310	0,312	0,339		0,005 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,027*	0,026*	0,012*	0,007 ^{ns}	0,008*	0,007 ^{ns}	$0,016^{ns}$	$0,011^{ns}$	Valores r
ΡA	0,286	0,309	ı	0,004 ^{ns}	0,006 ^{ns}	0,006*	0,029*	0,021*	0,011*	0,005 ^{ns}	0,008*	0,005*	$0,010^{ns}$	$0,010^{ns}$	lios
NT	0,299	•	0,003 ^{ns}	0,003 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,007*	0,038*	0,034*	0,015*	0,007*	0,012*	*600,0	0,017*	0,015*	tes más b
GC	ı	$0,001^{ns}$	-0,001 ^{ns}	$0,003^{ns}$	$0,005^{ns}$	0,005 ^{ns}	0,031*	0,027*	0,013*	0,005 ^{ns}	*600,0	0,007*	$0,012^{ns}$	0,007 ^{ns}	

De forma general, los resultados obtenidos corregidos por los algoritmos *ENA* para F_{ST} e *INA* para *DC*, como sin corregir (Anexo II), fueron iguales y próximos a cero en ambos índices, revelando un grado de estructuración bajo. Asimismo, en ambos análisis, se encontraron diferencias entre las poblaciones del Mediterráneo (Vilanova y Melilla) frente a las demás.

Tabla 14. Coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}), debajo de la diagonal método de corrección *ENA* (Chapuis y Estoup, 2007) y encima de la diagonal estimación de la distancia genética (*DC*, Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) usando el método de corrección *INA* (Chapuis y Estoup, 2007), entre las áreas muestreadas de *S. colias*. Consulte Tabla 1 para las abreviaturas de las áreas de muestreo.

	MP	AZ	NNP	ME	CA
CA	0,493	0,364	0,334	0,326	-
ME	0,471	0,305	0,278	-	0,013
NNP	0,479	0,314	-	0,010	0,007
AZ	0,487	-	0,005	0,004	0,007
MP	-	0,006	0,008	0,005	0,010

Valores más bajos 🔲 Valores más elevados

4.4.2. Dendrogramas de diferenciación y distancia genética

Las matrices de valores del coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}) y distancia genética (DC) sirvieron de base para la construcción de dos dendrogramas poblacionales basados en el método de agrupamiento NJ (Neighbour-joining) establecidos sobre las poblaciones y áreas de *S. colias* estudiadas.

A nivel poblacional se obtuvieron dos ramas principales (I y II, en Figura 10), donde las poblaciones se agruparon siguiendo un



patrón geográfico definido, a excepción de los puntos de muestreo correspondientes al Mar del Plata y a Faial, que son localidades geográficamente lejanas a las ramas en que se enrutan, probablemente debido a su bajo número de individuos. La rama que soporta mayor número de localidades (II) engloba a su vez dos subgrupos, además del mencionado Mar del Plata, otro donde se encuentran São Miguel, Canarias y las poblaciones del norte y noroeste de la Península, además de Almería. En la otra rama principal (I) encontramos las poblaciones pertenecientes a la costa Mediterránea, Vilanova y Melilla, además de Faial.



Figura 10. Dendrograma NJ que agrupa las poblaciones de acuerdo al grado de diferenciación genética (F_{ST}), con el método de corrección *ENA* (Chapuis y Estoup 2007).

A diferencia que con F_{ST} , en el dendrograma de la Figura 11, obtenido a partir de las distancias genéticas (*DC*) de Cavalli-Sforza se obtuvieron tres ramas. La primera (I) rama soporta a las poblaciones ubicadas en el Mediterráneo. La rama central (II) contiene todas las poblaciones de Canarias y las de la Costa Norte y Noroeste de la Península (con la excepción de Almería), separadas de la del Mar del Plata. La tercera (III) soporta la población de Faial.

También se realizaron dos dendrogramas con cada una de las matrices del coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}) y la distancia genética (DC) obtenida para las áreas geográficas.

La conformación general del dendrograma, a partir del F_{ST} , mostró claramente dos clados diferenciados. El primero (I) incluía el área del Archipiélago Canario (CA) y la costa Norte Noreste de la Península (NNP) y el segundo (II) el Mediterráneo (ME), Azores (AZ) y Mar del Plata (MP) (Figura 12).

El dendrograma que se obtuvo a partir de *DC*, mostró una estructura completamente diferente. La rama (I) que soportaba más peso, contenía un clado con NNP, ME y otro con AZ. Una segunda rama (II) con el área CA y la tercera (III) soportaba el área del MP. En este caso los resultados mostraron que las áreas más cercanas geográficamente son más parecidas genéticamente (Figura 13).

De forma general, los resultados obtenidos a partir de los dos índices muestran diferencias evidentes, basados en los distintos algoritmos con los que han sido analizados, pero coinciden tanto en poblaciones como en áreas en que las poblaciones del área del Mediterráneo aparecen más diferenciadas, con excepción de la Figura 13.







Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (Scomber colias, Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo



Figura 12. Dendrograma NJ que agrupa las áreas de acuerdo al grado de diferenciación genética (F_{ST}), con el método de corrección *ENA* (Chapuis y Estoup 2007).



Figura 13. Dendrograma NJ que agrupa las áreas de acuerdo al grado de distancia genética (*DC*), con el método de corrección *INA* (Chapuis y Estoup 2007).



4.4.3. Análisis de Coordenadas Principales

El PCoA estableció las relaciones de similitud genética para las 14 poblaciones analizadas. En este análisis se explica un 77,11% de la varianza genética obtenida entre las dos primeras coordenadas.

Los resultados muestran dos grandes grupos bien diferenciados (A y B). El grupo A está formado por las poblaciones del Mediterráneo (I), Melilla y Vilanova, y el grupo B constituido por el resto de las muestras que pertenecen a las poblaciones del Atlántico: São Miguel, Vigo, Sines, Ondarroa, (II) y las de Canarias (III). La población de Almería, situada geográficamente en el Mediterráneo, es la excepción de este patrón, ya que se integra en el grupo de las atlánticas. Finalmente las poblaciones de Faial y Mar del Plata (IV) se descuelgan de todos los agrupamientos quedando en un lugar intermedio entre ambos grupos, probablemente debido al menor número de individuos analizados (Figura 14).

Esto coincide con los dendogramas NJ por poblaciones basados en el coeficiente de diferenciación (F_{ST}) y las distancias genéticas (DC). Los dos grupos (A y B) como los cuatro subgrupos (I, II, III, IV), obtenidos concuerdan con los resultados extraídos para el análisis bayesiano en el siguiente apartado.





4.4.4. Análisis de Inferencia Bayesiana

El programa STRUCTURE (Pritchard *et al.* 2000), identificó la separación de grupos genéticamente homogéneos. En la primera evaluación se incluyeron todos los individuos (604), correspondientes a las 14 poblaciones de *S. colias* muestreadas, con el 100% de los genotipos para los 8 *loci*. Se realizaron tres repeticiones independientes del programa probando diferentes valores de grupos genéticos posibles (*K*), desde K= 1 hasta K= 15. En ésta prueba, tras el análisis de la media de la desviación estándar del logaritmo de la probabilidad de los datos, la tasa de variación de la probabilidad de distribución (media), el valor absoluto de segundo orden de la probabilidad de distribución y los valores modales de Delta de *K* frente a los valores de los posibles grupos genéticos, se infirió que el número de agrupaciones fue de K = 4 (Figura 15), el cual muestra el valor más elevado de Delta de K = 17,804 (Tabla 15).

Tabla 15. Estimaciones del valor de K siguiendo el método Evanno et al. 2005 para las poblaciones de Scomber colias.

K	Reps	Media LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	[Ln "(K)]	Delta K
1	ς ω	-27813,433	0,550757	•	•	ı
6	æ	-27391,200	15,677053	422,233	222,766	14,209
e,	3	-27191,733	8,020806	199,466	47,166	5,880
4	С	-26945,100	10,021976	246,633	178,433	17,804
S	æ	-26876,900	57,644861	68,200	0,733	0,012
9	3	-26807,966	7,446699	68,933	6,766	0,908
٢	3	-26745,800	40,76699	62,166	83,800	2,055
×	ю	-26599,833	36,111540	145,966	110,133	3,049
6	3	-26564,000	39,799874	35,833	18,466	0,463
10	3	-26546,633	63,369577	17,366	184,833	2,916
11	3	-26714,333	344,677995	-167,466	189,300	0,549
12	3	-26692,266	178,925944	21,833	0,900	0,005
13	æ	-26671,333	195,850589	20,933	8,733	0,044
14	3	-26641,666	129,528157	29,666	42,266	0,326
15	ю	-26654,266	60,923750	-12,600	I	I







Figura 15. Resultados obtenidos en STRUCTURE, graficados con Structure Harvester. **A.** L(K) (media +- SD); **B**. Tasa de variación de la probabilidad de distribución (media); **C**. Valor absoluto de segundo orden de la probabilidad de distribución **D**. Valores modales de $\Delta K = m (|L''K|) / sd(L(K))$ para inferir K.

Los resultados de STRUCTURE, que se muestran en la Figura 16, revelan la contribución en porcentaje de cada individuo perteneciente a cada "pool" genético. En él gráfico **A.** se observa la mezcla de los 4 grupos en todas las poblaciones. Las poblaciones de AZ, PV, PO, VI y AL tienen un alto porcentaje de pertenecer al grupo 1. Las poblaciones del Mediterráneo, VIL y ME se agrupan en el mismo grupo, el 2 y GC, TN, PA, FU y GO poseen un alto porcentaje de los grupos 3 y 4, los cuales se encuentran representados en todas las poblaciones.



Figura 16. Grupos estimados por STRUCTURE, para K=4 de las poblaciones analizadas (N = 604) para *Scomber colias*. Consulte Tabla 1 para las abreviaturas de las áreas de muestreo.

En la segunda evaluación, se introdujeron los datos por áreas, según los resultados del F_{ST} , *DC*, dendrogramas y PCoA (CA, ME, AZ, NNP con la población de AL). La base de datos para el análisis estaba constituida por 576 individuos y 8 *loci*, se descartaron las poblaciones de FA y AR por su bajo número de individuos y por los resultados obtenidos en los análisis anteriores. Se efectuaron cinco repeticiones independientes del programa probando diferentes valores de grupos genéticos posibles (*K*), desde *K*= 1 hasta *K*= 4. La estimación del número de grupos inferidos, tras el análisis según el método de Evanno *et al.* 2005, igual que en el caso anterior, fue de *K* = 2 (Figura 17. **D**.), con un valor de $\Delta K = 33,454$ (Tabla 16).



K	Reps	Media LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(<i>K</i>)	[Ln "(<i>K</i>)]	Delta K
1	5	-26544,800	0,406202	-	-	-
2	5	-26115,700	8,280399	429,100	277,020	33,454
3	5	-25963,620	29,735618	152,080	1,41,880	4,771
4	5	-25669,660	5,644289	293,960	-	-

Tabla 16. Estimaciones del valor de K siguiendo el método Evanno *et al.* (2005) para las áreas establecidas.



Figura 17. Resultados obtenidos en STRUCTURE de las áreas analizadas, graficados con Structure Harvester. **A.** L(K) (media +- SD); **B.** Tasa de variación de la probabilidad de distribución (media); **C.** Valor absoluto de segundo orden de la probabilidad de distribución **D.** Valores modales de $\Delta K = m (|L''K|) / sd(L(K))$ para inferir *K*.
Los resultados muestran la contribución en porcentaje de cada individuo perteneciente a dos "pools" genéticos (Figura 18). En ellos se aprecian claramente la separación del área del Archipiélago de Canarias con respecto a las otras áreas, no existiendo dentro de éstas ninguna agrupación destacable.



Figura 18. Grupos estimados por STRUCTURE, para K= 2 de las áreas analizadas (N = 576) para *Scomber colias*. CA: A. Canario; AZ: A. de Azores; NNP: C. Norte y Noroeste Peninsular; ME: C. Mediterránea.

4.4.5. Análisis Molecular de la Varianza

Los resultados del análisis jerárquico de la varianza molecular (AMOVA) revelaron una única estructura genética general en las poblaciones analizadas (Tabla 17).

Se analizaron cuatro escenarios diferentes, basándonos en los resultados anteriores. En el primero se obtuvo un coeficiente de diferenciación bajo ($F_{ST} = 0,007$; $P \le 0,01$), siendo a su vez el porcentaje de variación intrapoblacional elevado (99,32%; $P \le 0,01$).

En el segundo escenario se tomó como referencia los resultados obtenidos en el PCoA, por poblaciones, se hicieron dos grupos en el



que se comparó el océano Atlántico frente al mar Mediterráneo excluvendo a Almería, la cual y dada su posición en el análisis de coordenadas principales (PCoA) podría enmascarar los valores de diferenciación genética. La potencial estructuración geográfica entre las dos áreas fue considerablemente baja y poco significativa (F_{CT} = 0,004; P < 0.04), con un porcentaje de variación reducido (0.44%). Además, de una baja diferenciación entre las poblaciones dentro de cada una de las regiones (0.59%; $P \le 0.01$). La mayor parte de la variación genética (98,97%) se encontró, significativamente dentro de las poblaciones. En el tercer escenario se compararon el Atlántico Noreste (VI, PV, PO) versus Macaronesia (GC, TN, PA, FU, GO, SM) versus Mediterráneo (ME, AL, VIL). Tampoco se observó una estructuración geográfica entre regiones ($F_{CT} = 0,004$; $P \le 0,01$), con un porcentaje de variación (0,41%) similar al encontrado entre el océano Atlántico y el mar Mediterráneo y una baja diferenciación entre las poblaciones (0,40%; $P \le 0,01$). La variación encontrada en este caso, al igual que en los escenarios anteriores fue a nivel intrapoblacional (99,19%; $P \leq 0,01$). Por último, en el cuarto escenario se comparó Canarias frente al resto de poblaciones. De nuevo, no se mostró una estructuración geográfica entre regiones (F_{CT} = 0,005; $P \le 0,01$). Del mismo modo que en los otros escenarios, el coeficiente de diferenciación ($F_{ST} = 0,004$; $P \le 0,01$) y el porcentaje de variación intrapoblacional fueron bajos (0,39%; $P \leq 0,01$). La variación encontrada a nivel intrapoblacional fue elevada (99,06%; P $\leq 0,01$). En estos análisis no se tuvieron en cuenta las muestras correspondientes a las poblaciones de Faial y Argentina, debido al bajo número de individuos muestreados en las mismas.

Tabla 17. Análisis jerárquico de la varianza molecular (AMOVA) en Scomber colias. Océano Atlántico (GC, TN, PA, FU, GO, SM, VI, PV, PO) vs. Mediterráneo (ME, VIL), Atlántico Noreste (VI, PV, PO) vs. Macaronesia (GC, TN, PA, FU, GO, SM) vs. Mediterráneo (ME, AL, VIL), Canarias (GC, TN, PA, FU, GO) vs. Resto de poblaciones (SM, ME, AL, VIL, VI, PV, PO). Consulte Tabla 1 para las abreviaturas de las poblaciones analizadas.

Estructura testada	Fuente de variación	F estadísticos	Varianza	Porcentaje de variación	đ
(GC, TN, PA, FU, GO, SM, ME, AL, VIL, VI, PV, PO)	Entre poblaciones Dentro poblaciones	$F_{ST}=0,007$	0,006 0,896	0,68 99,32	0,00 0,00
Atlántico vs. Mediterráneo	Entre regiones Entre poblaciones Dentro poblaciones	$egin{array}{lll} F_{CT} = 0,004 \ F_{SC} = 0,006 \ F_{ST} = 0,010 \end{array}$	0,004 0,005 0,893	0,44 0,59 98,97	0,04 0,00 0,00
Atlántico Noreste vs. Macaronesia vs. Mediterráneo	Entre regiones Entre poblaciones Dentro poblaciones	$F_{CT} = 0,004$ $F_{SC} = 0,004$ $F_{ST} = 0,008$	0,004 0,005 0,897	0,41 0,40 99,19	0,00 0,00 0,00
Canarias vs. Resto de poblaciones	Entre regiones Entre poblaciones Dentro poblaciones	$egin{array}{lll} F_{CT} = 0,005 \ F_{SC} = 0,004 \ F_{ST} = 0,009 \end{array}$	0,005 0,003 0,897	0,55 0,39 99,06	0,00 0,00 0,00



4.4.6. Aislamiento por distancia

Con el objetivo de vislumbrar si existía una relación directa entre las distancias geográficas de las poblaciones y las distancias genéticas, se procedió a averiguar si la posible relación estuviese integrada en un modelo de aislamiento por distancia (IBD). Para ello, se realizó un test de Mantel según el cual, se correlaciona la distancia genética determinada por F_{ST} / (1- F_{ST}) y la distancia geográfica (km), de las poblaciones muestreadas. En esta ocasión el coeficiente de correlación fue bastante bajo (r = 0.282, $R^2 = 0.079$) y significativo P = 0.004 (Figura 19) por lo que se concluyó que no hay un claro aislamiento por distancia. Se realizó también un test de Mantel para las poblaciones de la costa Norte y Noroeste de la Península junto con Almería y otro con las poblaciones del Archipiélago Canario, ya que en ambos casos aparecían muy relacionadas entre sí en el análisis de coordenadas principales (PCoA). En ambos casos se obtuvo un bajo coeficiente de correlación, r = 0.34, $R^2 = 0.116$, P = 0.189 para las poblaciones de Canarias y r = 0.42, $R^2 = 0.182$, P = 0.229 para las poblaciones de la costa Norte y Noroeste de la Península-Almería, siendo no significativos (Figura 20 y 21). Por lo que muestran la inexistencia de un patrón de aislamiento por distancia.



Figura 19. Relación entre distancia genética $(F_{ST} / (1-F_{ST}))$ frente a la distancia geográfica (Km) para todas las poblaciones de *Scomber colias* analizadas.





Figura 20. Relación entre distancia genética $(F_{ST} / (1-F_{ST}))$ frente a la distancia geográfica (Km) para las poblaciones de *Scomber colias* analizadas en el Archipiélago Canario.



Figura 21. Relación entre distancia genética $(F_{ST} / (1-F_{ST}))$ frente a la distancia geográfica (Km) para todas las poblaciones de *Scomber colias* analizadas en la costa Norte y Noroeste de la Península-Almería.

4.4.7. Detección de cuellos de botella

El análisis demográfico realizado con el programa BOTTLENECK reflejó que en el modelo de dos fases (TPM) no se detectó evidencias de cuellos de botella en ninguna de las poblaciones (Tabla 18).



Poblaciones	Probabilidad exceso <i>H_E</i>				
	TPM				
Gran Canaria	0,371 ^{ns}				
Tenerife	0,320 ^{ns}				
La Palma	0,371 ^{ns}				
Fuerteventura	0,191 ^{ns}				
La Gomera	0,371 ^{ns}				
Almería	0,371 ^{ns}				
Vilanova	0,980 ^{ns}				
Melilla	0,004 ^{ns}				
Vigo	0,578 ^{ns}				
Ondaroa	0,371 ^{ns}				
Sines	0,578 ^{ns}				
São Miguel	0,423 ^{ns}				
Faial	0,125 ^{ns}				
Mar del Plata	0,578 ^{ns}				

Tabla 18. Probabilidad de excesos de heterocigosidad según el Test de Wilcoxon asumiendo que los *loci* se ajustan a un modelo de dos fases (TPM), con el ajuste de Bonferroni P < 0,006; ns: no significativo.

Además los resultados del análisis de la distribución de frecuencias alélicas señalaron una distribución "en forma de L" para todas las poblaciones, descartando la existencia de cuellos de botella reciente, es decir que hay una mayor proporción de alelos en frecuencias alélicas bajas (rango 0,001-0,1) que en frecuencias alélicas intermedias. El caso contrario sería el esperado para una población que hubiese pasado por un cuello de botella (Figura 22.A. y 22. B.).



Figura 22. A. Distribución de frecuencias alélicas acumuladas frente a los intervalos de frecuencias alélicas de todos los microsatélites analizados en las poblaciones muestreadas para *Scomber colias*. Se observa una distribución "en forma de L". Los valores a lo largo del eje X representan el valor máximo para cada clase de frecuencia de los alelos (la primera clase representa alelos con frecuencias entre 0 y 0,1; la segunda, entre 0,1 y 0,2; etc.).





Figura 22. B. Distribución de frecuencias alélicas acumuladas frente a los intervalos de frecuencias alélicas de todos los microsatélites analizados en las poblaciones muestreadas para *Scomber colias*. Se observa una distribución "en forma de L". Los valores a lo largo del eje X representan el valor máximo para cada clase de frecuencia de los alelos (la primera clase representa alelos con frecuencias entre 0 y 0,1; la segunda, entre 0,1 y 0,2; etc.)



5.1. Elección del tejido y tamaño muestral

Uno de los procesos más importantes en el análisis genético es estandarizar la conservación del tejido para obtener un ADN de calidad, que permita una correcta amplificación de los marcadores moleculares a utilizar. Asahida et al. (1996) establecen que el tampón de urea es adecuado para conservar muestras de tejido de hígado y músculo a temperatura ambiente de Clupea harengus (arenque atlántico) y Paralichthys olivaceus (falso halibut japonés). Sin embargo, en este trabajo, tras los ensayos realizados, se estableció el etanol al 96% como el producto que mejor conserva el tejido (Lamprea et al. 2004; Astorga 2005; Nagy 2010). Además se puso de manifiesto una apreciable degradación o disolución de los tejidos conservados en el tampón de urea, como observó Dawson et al. (1998) especialmente acentuada en las muestras de hígado (Figura 5 y 6). Por otra parte, las condiciones a las que son sometidas las muestras, desde la captura en mar abierto hasta que se procesan en el laboratorio, hacen que el hígado no sea el tejido más adecuado, ya que es un órgano que sufre una intensa autolisis *post mortem* (Ortloff *et al.*) 2011), por lo que en términos de calidad de la muestra y resultados analíticos posteriores es más adecuado el uso de tejido muscular (Weber et al. 2003; Chakraborty et al. 2006). Este último tejido ha sido empleado satisfactoriamente en estudios similares con muestras de escómbridos y otros peces (Appleyard et al. 2001; Lamprea et al. 2004; Infante et al. 2007; Astorga 2005; Tzeng et al. 2009; Tang et al. 2009).

Los valores de absorbancia a 280/260 nm (ADN/proteína = 1,8 a 2,2) medidos en nuestras muestras de *S. colias* después del proceso de extracción, mostraron la inexistencia de proteínas en

exceso (Lopera-Barrero *et al.* 2008) (Tabla 4), lo cual es indicativo de la presencia de ADN de buena calidad (Aljanabi y Martínez 1997; Wasko *et al.* 2003; Ferrara *et al.* 2006).

El tamaño mínimo de la muestra necesaria para detectar la variabilidad genética representativa mediante marcadores codominantes como los microsatélites, depende críticamente de la escala de aproximación requerida, ya sea a nivel individual (relación de genotipos y parentesco), de poblaciones, especies o grupos sociales (Chakraborty 1992; Bruford et al. 1996; Jones y Avise 1997; Shaw 1997). Obviamente, tamaños muestrales pequeños pueden ser insuficientes para proporcionar conclusiones fiables, y un número elevado es a veces inviable va sea por su coste económico o por las características propias de la especie. Basándose en simulaciones, Hale et al. (2012) sugieren que tamaños muestrales de 25 a 30 individuos por localidad son suficientes para estudios de genética de poblaciones si se basan en marcadores variables como los microsatélites, ya que permiten una estimación correcta de las frecuencias alélicas (de alelos con una frecuencia ≥ 0.05 y alelos representativos de la población). Además, muestran con precisión el nivel de heterocigosidad esperada y asegura que la muestra refleja, con considerable precisión, la composición genética global de las poblaciones de la especie. Así, en este trabajo se cumplen estos parámetros, con excepción de las muestras pertenecientes a las poblaciones de Faial y Mar del Plata, en las que no se pudo controlar su número, debido a que eran colecciones cedidas de otros grupos de investigación. Por tanto, entendemos que los resultados y conclusiones en estas poblaciones se encuentran condicionados por el menor tamaño muestral.



5.2. Microsatélites utilizados

El segundo objetivo de este trabajo ha sido establecer el uso y puesta a punto de una metodología de vanguardia basada en marcadores moleculares muy variables (microsatélites) que permitiesen comprender mejor la genética de poblaciones naturales de *S. colias* en el océano Atlántico y mar Mediterráneo, contribuyendo en la gestión de su pesquería.

Los microsatélites utilizados fueron marcadores creados para la especie S. *japonicus*, desarrollados por Yagishita y Kobayashi (2008). No se utilizaron marcadores específicos para S. colias ya que fueron descritos por Catanese et al. (2010) y el presente trabajo ya se encontraba considerablemente avanzado. Pero, como se ha demostrado en diversos estudios, para especies del mismo género (Yagishita y Kobayashi 2008; Tang et al. 2009; Zeng y Cheng 2012) y otros peces marinos (Rico et al. 1996), como salmón (Scribner et al. 1996) o arenque atlántico (Shaw et al. 1999), no es necesario que los microsatélites sean específicos para que amplifiquen con éxito y se obtengan buenos resultados. Evidentemente, cuanto más próximas sean filogenéticamente las especies, más posibilidades hay de disponer de una adecuada amplificación interespecífica, como ha sido el caso de S. colias y S. japonicus.

Se testaron nueve *loci* microsatélites del genoma de *S. colias* (Yagishita y Kobayashi 2008), ocho de los cuales mostraron productos de amplificación adecuados. El microsatélite Scja02, se descartó del análisis por la baja reproducibilidad de los resultados de amplificación. Cheng *et al.* (2015) analizaron la estructura genética de las poblaciones de *S. japonicus* utilizando, entre otros, los mismos

marcadores moleculares que los empleados en este trabajo, obviando sin justificación los microsatélites Sja01, Scja02 y Scja07, probablemente debido al mismo motivo. Del mismo modo, Zeng *et al.* (2012) omiten los microsatélites Sja01, Scja02, Scja04, Scja07 y Scja09 para el análisis de la estructura poblacional y los patrones de migración de *S. japonicus* en el este y sur de los mares de China.

5.3. Alelos bajo selección y alelos nulos

Globalmente las variaciones genéticas (alelos) que se encuentran sometidas a selección natural sufren un incremento en las poblaciones, produciéndose huellas distintivas en sus patrones de variación (Sabeti et al. 2006). Los análisis realizados para detectar si los loci estudiados se encontraban bajo selección indicaron que dos de ellos (Scja01 y Scja03) eran candidatos a encontrarse bajo ésta fuerza evolutiva, en este caso selección positiva o direccional (Figura 8). Dichos loci muestran diferencias en la relación entre el coeficiente de diferenciación y la heterocigosidad (F_{ST} - H_E), no siendo la que se espera bajo una distribución neutral. Pero hay que destacar que los microsatélites no son en general, las regiones sobre las que actúa dicha selección, si no que se encuentran bajo selección indirecta o selección hitchhiking. Es decir, que están físicamente ligados a genes selectivos o adaptativos (Slatkin 1995; Nielsen et al. 2006; Kasapidis et al. 2012). Diferentes procesos pueden generar la selección de los genes y para su estudio se requieren de análisis dirigidos a regiones particulares (Palo et al. 2003).

No obstante, la presencia de microsatélites bajo selección se ha citado en distintas especies (Slatkin 1995; Nielsen *et al.* 2006;



Kasapidis *et al.* 2012). Estos *loci* posiblemente ligados a genes adaptativos pueden afectar las estimaciones de algunos parámetros poblacionales, como el índice de diferenciación (F_{ST}) en un 30-50% (Allendorf y Seeb 2000; Luikart *et al.* 2003; Storz 2005), así como la topología y ramificación de dendrogramas y árboles evolutivos (Landry *et al.* 2002; Giger *et al.* 2006). Por ello, en este estudio, y con el propósito de determinar el grado y el rango de desviación y variación de los resultados, se procedió a comparar los análisis de asignación bayesiana utilizando los ocho *loci* mostrados en los resultados (los neutrales y los que estaban bajo selección) y, por otro lado, usando solo los 6 *loci* neutrales (Anexo III). Ya que los resultados obtenidos no mostraron importantes diferencias en el coeficiente de diferenciación (F_{ST}), ni en la topología o asociación de las poblaciones analizadas, se incluyeron los mismos en todos los análisis realizados.

Un problema generalizado que tienen los microsatélites es la presencia de alelos nulos, que son causados por mutaciones en la región de unión de los cebadores flanqueantes, lo cual evita su anclaje y la amplificación posterior de los alelos afectados (Pemberton *et al.* 1995; O'Connell y Wright 1997; Selkoe *et al.* 2006; Chapuis y Estoup 2007). Según O'Connell y Wright (1997) y posteriormente, Chapuis y Estoup (2007) plantearon que una de las posibles causas de la presencia de alelos nulos es el uso de cebadores que originalmente se han desarrollado para otras especies. No obstante, la frecuencia de alelos nulos es considerablemente alta en determinadas especies de peces aunque se hayan utilizado cebadores específicos para la especie (Dakin y Avise 2004).

Las opiniones del efecto que tienen la presencia de estos alelos en la identificación de la estructura genética en las poblaciones son muy diversas. En este estudio, la frecuencia encontrada de alelos nulos es menor del 20% en el 88,4% de los casos, estando acorde con lo reportado por Dakin y Avise (2004). Tras una amplia revisión bibliográfica, estos autores encontraron que las frecuencias de alelos nulos eran casi siempre < 0,40 y, normalmente, < 0,20. En especies del género *Scomber*, en los que se han usado los mismos microsatélites que en el presente trabajo, se han descrito alelos nulos en *S. japonicus* (Scja02, Scja03 y Scja07) y *S. australasicus* (Scja01, Scja02, Scja03, Scja05, Scja07, Scja09) (Yagishita y Kobayashi 2008), pero los autores no indican en qué frecuencias.

El 90% de los artículos con microsatélites que citan alelos nulos incluyen estos *loci* en sus análisis sin correcciones (Dakin y Avise 2004). Sin embargo, los alelos nulos pueden afectar las estimaciones de la diferenciación genética (F_{ST}) , de la distancia genética (DC) (Chapuis y Estoup 2007) y del grado de equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) de las poblaciones. Para comprobar las diferencias existentes al usar *loci* con alelos nulos, se corrigieron los datos con el algoritmo ENA para F_{ST} e INA para DC según el método descrito por Chapuis y Estoup (2007). Los resultados se compararon con los valores no corregidos, comprobando que eran muy similares entre ambos (Anexo II). Lo mismo ocurrió cuando se hizo el análisis eliminando los microsatélites Scja01 y Scja07, los cuales presentaron una mayor incidencia y frecuencia de alelos nulos (Anexo IV). Por tanto, los alelos nulos detectados en las poblaciones naturales de S. colias no están afectando la estimación de la diferenciación genética y se utilizaron en todos los análisis posteriores.



5.4. Equilibrio de Hardy-Weinberg

Todas las poblaciones se encontraban en desequilibrio de Hardy-Weinberg (HW), presentando un déficit de heterocigóticos (Tabla 12). El déficit de heterocigóticos en las poblaciones naturales de una especie puede ser consecuencia de diversos factores entre los cuales se encuentra la presencia de alelos nulos, como se mencionó anteriormente, el cruzamiento frecuente de ejemplares genéticamente emparentados, que haría aumentar el grado de endogamia en las poblaciones analizadas, el efecto Wahlund, consecuencia de existencia de estructuración genética intrapoblacional o la presencia de selección contra individuos heterocigóticos (Hartl y Clark 2007).

La presencia de alelos nulos, principalmente en el *locus* Scja01, debido a la no amplificación de algunos de ellos (Dakin y Avise 2004; Chapuis y Estoup 2007) conduciría a una menor detección de alelos, ya que estando presentes en la población no se ponen de manifiesto y, por tanto, generarían unos valores de frecuencias alélicas que no estarían en equilibrio de HW. Sin embargo, encontramos defecto de heterocigóticos en la mayoría de los *loci* que no presentan alelos nulos (Tabla 8 y 12), por lo que podemos descartar la presencia de alelos nulos como causa principal de la existencia del defecto de heterocigóticos.

En varios estudios se han encontrado que las poblaciones de peces marinos pueden presentar deficiencia de heterocigóticos consecuencia de un alto grado de endogamia (Zarraonaindia *et al.* 2009; Anderson y Karel 2012; McCairns *et al.* 2012; O'Leary *et al.* 2013; Cheng *et al.* 2014). En estos estudios el defecto de heterocigóticos es generalmente atribuido a la técnica o errores de

muestreo, y no suelen incluir explicaciones biológicas alternativas como la endogamia. Así autores como Hoarau et al. (2005) y O'Leary et al. (2013) sugieren que la endogamia debería ser considerada más frecuentemente como una posible causa de la desviación del equilibrio de HW en peces marinos sobreexplotados y con alta importancia comercial. Por lo que no podemos descartar el posible efecto de la endogamia en el desequilibrio de HW detectado en S. colias, sin hacer un análisis de parentesco apropiado, y disponer así de una evaluación menos sesgada de la magnitud y las causas de las desviaciones del equilibrio de HW (O'Leary et al. 2013). Sin embargo, los elevados niveles de variación genética mostrados en las poblaciones analizadas, nos hacen concluir que la endogamia no es el fenómeno biológico que hace que exista un defecto de heterocigóticos. Por último, no podemos descartar que el desequilibrio de HW sea consecuencia de la existencia de una subestructuración de las poblaciones, ya que durante las migraciones de los peces pelágicos tienen lugar la formación de cardúmenes, los cuales están constituidos por el reclutamiento de ejemplares de distintas cohortes (al menos en las fases adultas cuando existe una cierta convergencia de las talla). Es posible que en nuestras muestras se havan analizado subestructuras genéticas inapreciables e indetectables de otra forma, y por tanto no podemos descartar el efecto Wahlund. Resultados similares se han descrito en otras especies de peces pelágicos (González et al. 2008).



5.5. Diversidad Genética

El estudio de la variación genética de poblaciones naturales de especies de peces pelágicos marinos ha demostrado ser particularmente difícil. Esto es debido a las peculiaridades biológicas de los mismos, incluyendo grandes tamaños efectivos de población y altas capacidades de dispersión, así como por la aparente falta de barreras físicas para el flujo de genes en el medio marino (Ward *et al.* 1994; Avise 1998; Graves 1998; Hauser y Ward 1998; Cowen y Sponaugle 2009).

El nivel de variabilidad genética encontrada en las poblaciones de *S. colias*, fue globalmente alta, y similar a los niveles descritos en la bibliografía para otras especies del mismo género (Yagishita y Kobayashi 2008; Tang *et al.* 2009; Tzeng *et al.* 2009), siendo mayores a los que utilizan los mismos microsatélites (Cheng *et al.* 2015) (Tabla 19). Incluso, los niveles de variabilidad han sido superiores a los encontrados en otras especies tales como atún rojo, *Thunnus thynnus*, jurel del Pacífico sur o chileno *Trachurus murphyi* o caballa española *Scomberomorus commerson* (Carlsson *et al.* 2004; Cárdenas *et al.* 2009; Fauvelot y Borsa 2011) (Tabla 20).

Estamos, por tanto, ante una especie con elevados niveles de diversidad genética, los cuales parecen distribuirse más o menos homogéneamente entre todas las regiones o áreas estudiadas. Al comparar la diversidad genética por áreas geográficas se aprecia que las poblaciones pertenecientes a la costa Mediterránea (ME) poseen una diversidad levemente superior (H_E = 0,900), siendo la segunda con valores más elevados en riqueza alélica (Ar = 8,69) y número de alelos exclusivos (13). Posiblemente la separación de las poblaciones

estudiadas del Mediterráneo hace que tengan dichos niveles (ver apartado 5.6. Diferenciación y estructura genética).

Tabla 19. Comparativa de la diversidad genética encontrada en distintas especies del género *Scomber*. Número de individuos analizados (*N*), número medio de alelos por *locus* (*A*), heterocigosidad esperada (H_E).

Taxon	N	A	He	Fuente
Scomber japonicus	213	8,49	0,929	Cheng et al. 2015
Scomber japonicus	32	18,00	0,906	Tang et al. 2009
Scomber colias	588	33,00	0,888	Este trabajo
Scomber japonicus	24	18,40	0,886	Yagishita y Kobayashi 2008
Scomber australasicus	20	18,50	0,885	Yagishita y Kobayashi 2008
Scomber australasicus	159	33,45	0,879	Tzeng et al. 2009
Scomber australasicus	27	16,70	0,827	Tang et al. 2009
Scomber japonicus	127	29,28	0,796	Tzeng et al. 2009
Scomber japonicus	319	10,89	0,746	Cheng et al. 2014
Scomber japonicus	169	8,03	0,701	Zeng et al. 2012

Los niveles de diversidad genética en cualquier especie son consecuencia de numerosos factores biológicos, evolutivos, históricos o geográficos, destacando la capacidad de migración, el grado de cruzamiento y la historia evolutiva de la especie (Amos y Harwood 1998). Por tanto, entendemos que los niveles de variabilidad genética detectados son posiblemente debidos a que *S. colias* es una especie con una alta capacidad migratoria, así como con una alta dispersión a nivel larval y por ende con un flujo genético considerable. Esto hace que mantenga un proceso de conectividad muy elevado, eliminando la estructuración genética, reduciendo los efectos estocásticos de la acción de la deriva genética y, por tanto, elevando el nivel de



variabilidad genética intrapoblacional. Hecho que se ve refrendado porque no hubo evidencias de cuellos de botella cuyo efecto haya perdurado hasta las poblaciones actuales.

Tabla 20. Comparativa de la diversidad genética encontrada en distintas especies de teleósteos. Número de individuos analizados (N), número medio de alelos por *locus* (A), heterocigosidad esperada (H_E).

Taxon	N	A	Не	Fuente
Gadus morhua	186	46,00	0,900	O'Connell y Wright 1997
Gadus morhua	54	41,00	0,898	O'Connell y Wright 1997
Salmo salar	59	37,00	0,890	O'Connell y Wright 1997
Clupea harengus	50	33,00	0,889	O'Connell y Wright 1997
Scomber colias	588	33,00	0,888	Este trabajo
Gadus morhua	60	20,00	0,864	O'Connell y Wright 1997
Dicentrarchus labrax	24	8,00	0,860	O'Connell y Wright 1997
Trachurus murphyi	219	36,3	0,850	Cárdenas et al. 2009
Merluccius merluccius	600	20,41	0,845	Lundy <i>et al. 2000</i>
Pagellus bogaraveo	123	10,08	0,833	Piñera et al. 2007
Rhomboplites aurorubens	501	26,00	0,828	Bagley et al. 1999
Merluccius merluccius	483	27,59	0,785	Lundy <i>et al. 1999</i>
Gadus morhua	127	25	0,757	O'Connell y Wright 1997
Dicentrarchus labrax	172	-	0,792	García de León <i>et al. 1997</i>
Salmo salar	32	24	0,730	O'Connell y Wright 1997
Thunnus thynnus	280	8,49	0,680	Carlsson et al. 2004
Scomberomorus commerson	212	-	0,531	Fauvelot y Borsa 2011
Salmo salar	33	4	0,351	O'Connell y Wright 1997
Oncorhynchus tschawytscha	28	5	0,244	O'Connell y Wright 1997

Los procesos oceanográficos y las condiciones climáticas son los responsables de limitar la distribución espacio-temporal de los individuos, larvas y huevos a distinta escala. De este modo la diversidad intra e interpoblacional en S. colias está influida por barreras físicas creadas por la circulación de las masas de agua, los regímenes de temperatura y la topografía costera, que dificultan el movimiento de los peces y sus larvas (Dawson et al. 2001). Obviamente, la distancia geográfica y las características batimétricas existentes en las áreas estudiadas constituyen también condicionantes en la posible diferenciación y separación genética de la especie, pero las barreras físicas impuestas como los gradientes de salinidadtemperatura y las profundidades (3.000 metros entre algunos puntos de muestreo) pueden impedir la migración de adultos, sin influir en la deriva de huevos y larvas (Cuyás et al. 2004). Debido a que las fases larvarias de la caballa son planctónicas, esta especie presenta un alto potencial de dispersión pasiva durante un periodo relativamente amplio (alrededor de 29 días de período larval pasivo) (Cheng et al. 2015), durante el cual las larvas y huevos pueden ser transportados fácilmente por corrientes y flanquear barreras discernibles (Palumbi 1992), alcanzando así regiones distantes.

En este contexto los resultados obtenidos para *S. colias* son consistentes con su naturaleza cosmopolita y con estudios previos sobre la filogeografía de la especie (Scoles *et al.* 1998, Zardoya *et al.* 2004, Infante *et al.* 2007, Catanese *et al.* 2007, 2010). Además, las características biológicas de la especie apoyan los resultados obtenidos, ya que aunque no se conocen muy bien las zonas de desove y migración de esta especie en las aguas atlánticas europeas (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000; Zardoya *et al.* 2004; Martins *et al.*



103

2013), se sabe que el reclutamiento de *S. colias* es claramente diferente al de otros escómbridos. Las larvas exhiben un comportamiento voraz con raciones diarias altas (87% del peso corporal) (Hunter y Kimbrell 1980). Presenta una alta tasa de fecundidad (una hembra de 47 cm puede llegar a poner más de 800 mil huevos por periodo reproductivo (Ciechomski y Capezzani, 1969)) el doble que el de *S. scombrus* (400.000 huevos por año) (Metz y Myers 1969). La alta fecundidad y el comportamiento más voraz de las larvas puedan actuar contra el reclutamiento local de la especie y prevenir la estructura genética de sus poblaciones (Zardoya *et al.* 2004).

5.6. Diferenciación y estructura genética

Los valores medios bajos (0,02) en las estimaciones del coeficiente de diferenciación (F_{ST}) en peces marinos pueden ser debidas a errores aleatorios de muestreo (ruido) o tener significado biológico (señal), y es importante determinar la contribución relativa de cada componente (Ward *et al.* 1994; Waples 1998). Waples (1998) dictó una serie de directrices para determinar la importancia relativa del ruido asociado con estas señales débiles de diferenciación. Explicó que la contribución relativa del muestreo intra-*locus* a la proporción de señal o ruido puede ser estimada con 1/(2S), donde S es el tamaño de la muestra. Para una muestra de 25 individuos, esta proporción es 0,02, valor idéntico a la estimación del F_{ST} medio de los peces marinos. En nuestro caso los valores de F_{ST} son inferiores a la media estimada para el conjunto de peces marinos, pero es una conclusión errónea pensar que estimaciones de $F_{ST} < 0,02$ no son biológicamente significativas (Hinton y Bremer 2007). Para este estudio, considerando

S= 604 y un F_{ST} medio de 0,007, significativo entre poblaciones (Tabla 17), se estimó que el nivel de ruido para el tamaño de muestra fue de 0,0008, menos del 12% de la señal. Esto implica que el error de muestreo intra-*locus* no juega un papel importante en la explicación del valor reportado de F_{ST} . Así, el tamaño de muestra usado se considera suficiente para reducir el error de muestreo intra-*locus* (ruido), y permitió detectar la señal genética. Hay que tener en cuenta que discernir poblaciones biológicas frente a las estadísticas es complicado, ya que muestras de la misma población tomadas en diferentes momentos pueden ser significativamente diferentes genéticamente (Jorde y Ryman 1996). Además de tener en cuenta las limitaciones propias de los algoritmos empleados en los análisis estadísticos.

En general, las especies marinas muestran poca o ninguna diferenciación genética, en escalas geográficas de cientos o incluso miles de kilómetros, debido a la gran dispersión de las larvas pelágicas, y a la falta de barreras físicas obvias que en general se aprecian en las áreas oceánicas. (Palumbi 1994; Grant y Bowen 1998; Hellberg *et al.* 2002). Además, los peces pelágicos muestran habitualmente menor diferenciación genética entre poblaciones que el resto de peces marinos, debido a que presentan una amplia distribución geográfica, grandes tamaños poblacionales y movimientos migratorios (Hauser y Ward 1998).

En algunas especies de peces pelágicos marinos se ha detectado una pequeña diferenciación genética, pero altamente significativa estadísticamente, lo que demuestra que las poblaciones diferenciadas genéticamente pueden surgir y persistir en ausencia de



barreras físicas aparentes o de grandes distancias (Knutsen *et al.* 2003; Nielsen *et al.* 2004; Bekkevold *et al.* 2005; André *et al.* 2011). En este mismo sentido, hemos detectado un bajo nivel de diferenciación entre las unidades poblacionales estudiadas de *S. colias* (0,007), muy inferiores a los valores descritos para *S. japonicus* (Zeng *et al.* 2012; Cheng *et al.* 2015) (0,064 y 0,049 respectivamente). Además el 99,32% de la variación genética se encontró entre los individuos dentro de las poblaciones (Tabla 17), que son resultados también superiores a los dados por Zeng *et al.* (2012), con un 93,5% de la variación entre los individuos dentro de las poblaciones para *S. japonicus*.

Estos bajos valores de diferenciación genética y elevados niveles de variabilidad intrapoblacional son un fuerte indicativo de que el flujo genético, en general, es continuo en esta especie y, por tanto, la conectividad y migración de sus genes es un acontecimiento generalizado en las áreas estudiadas. Se ve igualmente refrendado en el número de alelos exclusivos, ya que de un total de 380 alelos detectados sólo 56 fueron privados. Resultados similares se han descrito en otras especies de peces marinos (Slatkin 1981a, 1985b; Ruzzante *et al.* 1997; Piñera *et al.* 2006; Roberts y Ayre 2010).

Sin embargo, a pesar de la importante continuidad genética que existe entre las poblaciones y áreas, se aprecian distintas agrupaciones que demuestran la presencia de ciertas barreras a este flujo génico, manteniendo las poblaciones diferenciadas genéticamente. Este fenómeno también se ha descrito en otros casos de peces pelágicos (Knutsen *et al.* 2003; Nielsen *et al.* 2004; Bekkevold *et al.* 2005; André *et al.* 2011). De hecho, los resultados del análisis de inferencia bayesiana por poblaciones establece como número de grupos más probable K = 4. Estos se corresponderían con las poblaciones del (I) Archipiélago Canario, (II) el conjunto de isla São Miguel-costa norte y noroeste peninsular y Almería, (III) Vilanova-Melilla y (IV) el resto (Faial y Mar del Plata) (Figura 16).

Los valores de diferenciación genética (F_{ST}) más elevados, es decir las mayores distancias genéticas, se encontraron entre las poblaciones de Vilanova y Melilla y el resto (Tabla 13). La diferenciación de estas dos poblaciones fue confirmada por los dendrogramas poblacionales NJ (Neighbour-Joining) (Figura 9), por el análisis de coordenadas principales (PCoA) (Figura 13) y apoyada también por los resultados de la varianza molecular (AMOVA).

El estrecho de Gibraltar se ha citado con frecuencia como una barrera biogeográfica para especies con distribución Atlántico-Mediterránea (Galarza 2007; Galarza *et al.* 2009a, Galarza *et al.* 2009b; Sala-Bozano *et al.* 2009). Numerosos estudios basados en marcadores genéticos han dado evidencias de diferenciación genética entre el Mediterráneo y el Atlántico para especies como el pez espada (*Xiphias gladius*) (Kotoulas *et al.* 1995), la merluza europea (*Merluccius merluccius*) (Lo Brutto *et al.* 2004; Castillo *et al.* 2005), el sargo común (*Diplodus sargus*) (Bargelloni *et al.* 2005), el pejeverde (*Thalassoma pavo*) (Costagliola *et al.* 2004), la cigala (*Nephrops norvegicus*) (Stamatis *et al.* 2004) y diferentes espáridos (Bargelloni *et al.* 2003).



Por otro lado, en el análisis de la diferenciación genética entre las poblaciones del océano Atlántico y mar Mediterráneo cabe destacar que la población de Almería aparece más relacionada con las poblaciones del Atlántico que con las del Mediterráneo. Este hecho se fundamenta en el comportamiento propio de la especie, ya que son altamente migradores y se desplazan por la plataforma sin abandonar las aguas neríticas (Castro-Hernández y Santana-Ortega 2000). Por ello, es muy posible que los individuos adultos de esta especie sean incapaces de atravesar el mar de Alborán, cuyas profundidades alcanzan más de 1000 m. en algunas zonas (Masqué et al. 2003), y llegar así hasta aguas del norte de África (i.e.: Melilla). Además, el transporte larvario está facilitado por la corriente de Portugal, desde las zonas de puesta de las costas portuguesas hasta las aguas del Golfo de Cádiz (Martins et al. 2013). Resultados similares han sido citados por Cimmaruta et al. (2005), que relacionan la merluza europea de la costa de Málaga más con las presentes en costas de Galicia y la Bahía de Vizcaya, que con otras poblaciones mediterráneas. De hecho, se ha declarado como límite biogeográfico el área comprendida entre Almería (España) y Orán (Marruecos), conocido como frente Almería-Orán (AOF), debido a su oceanografía (Galarza 2007). Aquí se produce un elevado flujo genético a través del estrecho de Gibraltar entre el océano Atlántico y el mar Mediterráneo. Este flujo ha sido confirmado también por Velasco et al. (2011), mediante estudios biológicos de edad y crecimiento en la caballa, cuyos resultados sugieren que el estrecho de Gibraltar no supone una barrera geográfica para el normal desarrollo del ciclo vital de S. colias y que es una vía de comunicación importante que permite la existencia de un flujo larval entre el Atlántico y el Mediterráneo. Partanello et al. (2007), tras realizar una revisión bibliográfica de 20 estudios genéticos en distintas especies de peces en éste área, identificaron una ruptura filogeográfica entre el Mediterráneo y el Atlántico asociado al frente Almería-Orán y no con el estrecho de Gibraltar.

El AOF es un frente situado a unos 400 km al este del estrecho de Gibraltar, que constituye un límite semipermanente entre las masas de aguas superficiales formadas por la convergencia del océano Atlántico y el mar Mediterráneo (Figura 23). Está formado por una termohalina confinada en los 300 metros superiores de la columna de agua y que se caracteriza por fuertes gradientes de densidad en algunas zonas de surgencia (Tintore *et al.* 1988).



Figura 23. Flujo de corrientes superficiales en el Mediterráneo. AOF: Frente Almería Orán. Fuente: NASA/Global Change Master Directory (GCMD) Earth Science Keywords. 2013.

La combinación de las propiedades de la densidad del agua (resultado de los gradientes de temperatura-salinidad) y los procesos



del viento, confieren al Mediterráneo de unos peculiares patrones de circulación superficiales (Figura 23), generándose en el mar de Alborán unos giros (remolinos) que probablemente impiden que los huevos y larvas de la población de Almería sean distribuidos hacia las las áreas más al este de la Península y con Melilla. No obstante, la población de Vilanova y Melilla se pueden encontrar relacionadas entre sí, debido a que las poblaciones de caballa del este de la Península están relacionas con las norteafricanas primero por el flujo larvario a través del AOF, hacia el este de la costa norteafricana, y luego por la migración tróficas de adultos en sentido inverso, a lo largo de las aguas nerítica de ésta costa, alcanzando incluso Melilla. Estos resultados no coinciden con los descritos por Zardoya et al. (2004), quienes dan evidencias de un extenso flujo genético entre las cuencas del Mediterráneo y Atlántico para S. japonicus (reconocida como S. colias) mediante el análisis de ADN mitocondrial, en el cual no encontraron niveles significativos de estructura genética entre las poblaciones, indicando que se comporta como una unidad panmíctica. Las posibles diferencias encontradas entre ambos estudios pueden ser debidas a que estos autores utilizaron marcadores moleculares diferentes, siendo los microsatélites marcadores más variables, con una herencia nuclear (O'Connell y Wright 1997). Además, analizaron muestras del Mediterráneo con una única población atlántica, en Portugal, lo cual podría estar condicionando los resultados.

La población de São Miguel, en Azores, también muestra menos diferencias con las poblaciones atlánticas de la Península Ibérica que con otras, teóricamente más relacionadas, como serían las del Archipiélago Canario. No obstante, es posible que el frente de Azores, un corredor que va de oeste a este, perpendicular a la costa peninsular, esté generando estructuras mesopelágicas, remolinos (Sangrà *et al.* 2009), que provoquen un transporte de las fases larvarias producidas en Azores hacia el este. Los remolinos aquí producidos retendrían los huevos y larvas, siendo transportados hasta llegar a las costas de la Península Ibérica, mediante la Corriente de Azores, conectando ambas unidades poblacionales (Figura 24).

A medida que la Corriente de Azores se acerca al margen este del Atlántico Norte, gira hacia el sur forzada por los vientos y el bloqueo del continente africano, constituyendo la Corriente de Canarias (Moyano 2009). De este modo cabría esperar una mayor relación entre estas poblaciones, pero en los dendrogramas (Figura 11), PCoA (Figura 14), así como en STRUCTURE (Figura 18), se aprecia como las poblaciones del Archipiélago Canario, dentro de la homogeneidad descrita (Tabla 13), constituyen un grupo genéticamente diferenciado.

Hay varios hechos que podrían explicar esta situación: en primer lugar, el mantenimiento de la asociación de larvas de peces con estructuras físicas mesoescalares, las cuales dependen de la presencia de condiciones que favorezcan el crecimiento y la supervivencia de las mismas, así como de procesos físicos que causarían la disrupción de esas asociaciones, como son los flujos ciclónicos (Werner *et al.* 1993), los frentes (Galarza *et al.* 2009), los procesos físicos dispersivos, los remolinos de núcleo cálido (Drinkwater *et al.* 2000), los filamentos de afloramiento (Rodríguez *et al.* 2004), procesos de difusión (Fortier y Legget 1985), además de factores biológicos como son la metamorfosis y la predación (Moyano 2009), reduciendo en gran



medida el flujo larvario desde el Archipiélago de Azores hasta el Archipiélago Canario.

En segundo lugar, las características oceanográficas propias del Archipiélago Canario, destacando la presencia del afloramiento africano del cual se desprenden masas de agua, en forma de filamentos, que alcanzan cientos de kilómetros, que influve principalmente a las islas de Lanzarote, Fuerteventura y Gran Canaria (Bas et al. 1995; Rodríguez et al. 1999), llegando incluso a la isla del Hierro en alguna ocasión (Pacheco & Hernández-Guerra, 1999; Pelegrí *et al.* 2005), y que permiten la dispersión de huevos y larvas entre las islas y su entorno (Rodríguez et al. 1999; Hernández et al. 2007; Bécognée, 2009). Así, Moyano en 2009, observó la presencia de larvas de S. colias en estas estructuras que se desprenden del afloramiento, demostrando que hay un transporte larvario de esta especie, entre África y las islas, actuando como una fuente complementaria de individuos del stock existente. En este contexto, las poblaciones canarias estarán más relacionadas con las de la costa noroeste de África que con las del norte del Atlántico.

Además, Sangrà *et al.* (2009) describen un tipo de estructura permanente llamada "Canary Eddy Corridor", corredor de remolinos canarios, el cual es un corredor zonal de remolinos mesoescalares, al sur del Archipiélago Canario, de vida larga (>3 meses), que surge de la perturbación del flujo de la Corriente de Canarias y los vientos Alisios, siendo desplazados hacia el oeste (Figura 24). Esto unido a las zonas de retención de huevos y larvas neríticas a barlovento y sotavento en la estela cálida de las islas, puede hacer que queden atrapados en los remolinos. De esta manera, actúan, bajo las condiciones adecuadas, como guarderías que asociados con los filamentos, pueden llegar a las costas de las diferentes islas, suponiendo un aporte para las poblaciones larvarias locales (Moyano 2009). Esto da lugar a una homogeneización de las poblaciones, eliminando así el aislamiento por distancia entre las islas (Figura 20).



Figura 24. Mapa esquemático de las principales corrientes en el noroeste del Atlántico subtropical. Flecha azul celeste: corrientes de superficie; flechas azul marino: CPO: Corriente de Portugal, CA: Corriente de Azores, CC: Corriente de Canarias, CEN: Corriente Ecuatorial del Norte, CP: Corriente de Pendiente. Áreas de retención (naranja) y dispersión (verde) larval. También se representan los corredores que constituyen la localización de origen de los remolinos de más de 6 meses. Modificado de Arístegui *et al.* 2009 y Sangrà *et al.* 2009.



Por tanto, estas razones, de forma general, serían las causas más probables de la diferenciación genética de las poblaciones de Canarias respecto a las demás.

5.7. Recomendaciones para la conservación y gestión

Las especies marinas por lo general exhiben baja diferenciación genética poblacional (Ward *et al.* 1994), pero estudios recientes han revelado estructuración genética entre las poblaciones que se pensaba que exhibían una estructura homogénea. Esto es incluso válido para especies altamente migratorias, con una amplia distribución espacial y alto potencial de dispersión (Jørstad *et al.* 1991; Hutchinson *et al.* 2001). Por lo tanto, aunque los gestores pesqueros se enfrentan a estructuras de poblaciones complejas y dinámicas, las herramientas de gestión establecidas y unidades de gestión espaciales siguen siendo bastante estáticas (Reiss *et al.* 2009).

Aunque existe una gran cantidad de bibliografía acerca de la estructura genética de las poblaciones de peces marinos, pocos estudios abordan específicamente la gestión pesquera y la genética de poblaciones (Ryman y Utter 1987; Ward 2000; Smedbol y Stephenson 2001; Kenchington *et al.* 2003; Laikre *et al.* 2005; Waples *et al.* 2008). Estos estudios manifiestan el potencial de los datos genéticos para mejorar la comprensión de la estructura de las poblaciones, junto con la diversidad intraespecífica, y en consecuencia el desarrollo de estrategias específicas de gestión.

A pesar de que *S. colias* posee un alto valor económico en las pesquerías de varios países (Castro-Hernández y Santana Ortega 2000), y es una de las especies más capturadas a nivel mundial (FAO
2011), la única medida de gestión existente es la talla mínima de captura (TCM), la cual es distinta en función del caladero del que se extraiga dicha especie.

En el caladero canario, la talla legal de captura es de 18 cm (según Real Decreto 560/1995, de 7 abril, por el que se establecen las tallas mínimas de determinadas especies pesqueras en Canarias), no coincidiendo ésta con su talla de primera madurez, que se alcanza a los 20 cm (Lorenzo y Pajuelo 1996). En el Mediterráneo Occidental esta talla también está fijada en 18 cm, mientras que en el Cantábrico no está sujeta a medidas de gestión (Alvarez *et al.* 2015), debido a que no es una especie objetivo. No obstante, la TCM se establece en 20 cm para los caladeros del Cantábrico, noreste peninsular y Golfo de Cádiz, tanto para *S. scombrus* como para *S. colias* (DOCE L125, 27-04-98).

El hallazgo de homogeneidad genética entre regiones, es relativamente poco informativo para los gestores pesqueros, ya que tal homogeneidad refleja un nivel de flujo genético suficiente para generar panmixia (Hauser y Ward 1998), lo cual no influye en las estrategias de gestión de las pesquerías. Los resultados de este estudio han revelado leve estructuración genética entre las poblaciones que se pensaba exhibían una estructura homogénea. Teniendo estos, importantes implicaciones para el manejo de las pesquerías de *S. colias* en el Atlántico Norte y Centro Oriental, al igual que en el Mediterráneo Occidental. Por tanto, es necesario definir los límites geográficos de las poblaciones en escalas relevantes para la gestión pesquera, ya que la identificación de los patrones de flujo genético es



importante a la hora de diseñar el esfuerzo de la conservación de los recursos marinos (Galarza 2007).

Se proponen, por tanto, tres estructuras poblacionales diferenciadas. Por un lado, la de Canarias, por otro la del Atlántico Norte (Azores y costa norte, noreste y sur de la Península, hasta Almería), y una tercera a partir del frente Almería-Orán (AOF) para el Mediterráneo Occidental (Melilla y Vilanova). Teniendo en cuenta siempre que los datos genéticos deben observarse como una herramienta complementaria a otras disciplinas y que se pretende mantener el nivel máximo de las variaciones genéticas en las poblaciones, al ser vital para la preservación de los recursos genéticos, estás medidas deben cautela. Por ello. tomarse con las recomendaciones para la conservación y la gestión de este recurso, se suman a las ya dadas por otros autores (Castro et al. 2001; González 2008). Estas deben incluir un seguimiento regular y continuo de las actividades pesqueras a través de una red de información estable de pesca (captura y esfuerzo), ya que por ejemplo en las Islas Canarias se desconoce su abundancia y estado de explotación por ausencia de evaluaciones continuadas y estadísticas pesqueras (Hernández-García et al. 1998; González 2008; Martínez 2011). Además, es necesario realizar evaluaciones periódicas con técnicas hidroacústicas, así como determinar los parámetros biológicos y poblacionales que permitan un mejor conocimiento de zonas de desove y patrones de migración de esta especie en las aguas atlánticas europeas. Es más, S. colias es una de las 22 especies de escómbridos sobre la que se aconseja que se priorice una mayor investigación de su ciclo de vida, en las próximas décadas, debido a que hay pocos datos de ella y soporta una importante pesquería (Juan-Jordá 2013), cuyas capturas han aumentado considerablemente en las últimas décadas y a menudo son mal clasificadas en los registros de estadísticas pesqueras de los distintos países (FAO 2010, 2013). También se requieren más análisis genéticos con marcadores moleculares de alta resolución, como los desarrollados por Catanese *et al.* (2010), o con los recientes avances en la caracterización genómica en la estructuración poblacional (Bradbury *et al.* 2012), para corroborar los resultados aquí mostrados.







1.- De los 9 marcadores moleculares (cebadores de microsatélites) desarrollados específicamente para *Scomber japonicus* por Yagishita y Kobayashi (2008), ocho amplificaron correctamente y se mostraron polimórficos en muestras de *Scomber colias*, lo cual demuestra la importante relación genética entre ambas especies del género *Scomber*.

2.- El músculo conservado en etanol (96°) fue el tejido con el cual se obtuvo las mejores condiciones de conservación y extracción de ADN y fue, por tanto, el procedimiento elegido para realizar los análisis genéticos.

3.- Se detectaron 30 alelos para el *locus* Scja08 y 70 para el *locus* Sca06, siendo la población de São Miguel, en Azores, la que mayor número de alelos diferentes (217) se detectaron.

4.- Se detectó un importante número de alelos nulos con una frecuencia considerable en los *loci* Scja01 y Scja07, lo cual puede ser consecuencia de que los cebadores moleculares utilizados no fueran específicos de *Scomber colias*. No obstante, la presencia de alelos nulos es un hecho frecuente en los estudios moleculares en peces.

5.- Las poblaciones de Azores (São Miguel y Faial) mostraron los mayores y menores niveles de diversidad genética respectivamente. En el caso de la población de Faial, estos niveles tan bajos posiblemente sean debido al reducido número de muestras analizadas.

6.- Existe un desvío significativo de las frecuencias alélicas del equilibrio de Hardy Weinberg en la mayoría de las poblaciones analizadas, detectándose un defecto de heterocigotos en las mismas.



Consideramos que este déficit no es consecuencia de la endogamia, ya que la especie presentó elevados niveles de diversidad genética. Al mismo tiempo, podemos descartar que sea debido al efecto de los alelos nulos, ya que dicho déficit afectó a la mayoría de los loci, independientemente de la presencia de estos.

7.- Posiblemente el defecto de heterocigóticos sea consecuencia del efecto Wahlund, es decir, de la existencia de una subestructuración genética de las poblaciones, ya que durante las migraciones de los peces pelágicos tienen lugar la formación de cardúmenes, los cuales están constituidos por el reclutamiento de ejemplares de distintas cohortes (al menos en las fases adultas cuando existe una cierta convergencia de las talla), por lo que es posible que las muestras se hayan analizado subestructuras genéticas inapreciables e indetectables de otra forma.

8.- En general, los niveles de diversidad genética detectados en la especie *Scomber colias* en las áreas estudiadas son considerablemente elevados y similares a los niveles reportados para otras especies de escómbridos.

9.- La variabilidad genética de *Scomber colias* en el mar Mediterráneo Occidental es levemente superior que la encontrada en otras áreas, debido posiblemente a un flujo de genes hacia el interior del Mediterráneo desde las poblaciones del Atlántico lo cual hace que las poblaciones del interior del Mediterráneo alberguen mayor niveles de variabilidad genética.

10.- Los marcadores moleculares no permitieron detectar una diferenciación genética elevada entre las poblaciones y áreas

estudiadas, lo cual se traduce en la existencia de un elevado nivel de flujo genético entre las poblaciones de *Scomber colias* en el océano Atlántico y mar Mediterráneo Occidental.

11.- A pesar del considerable flujo génico encontrado, los análisis realizados detectaron la presencia de cuatro grupos genéticamente diferenciables y que correspondían con las poblaciones de Canarias, por un lado, las poblaciones atlánticas de la Península Ibérica (junto Almería) incluyendo Azores, y las poblaciones de Melilla y Vilanova. Las diferencias encontradas en las muestras procedentes de Faial y Mar del Plata pueden estar muy condicionadas por el reducido número de muestras analizadas.

12.- La oceanografía de las áreas estudiadas constituye el elemento fundamental que explica la existencia de estas agrupaciones genéticas, ya que juega un papel predominante en la distribución de huevos y larvas de *Scomber colias*. La dinámica marina permite la homogeneizar genéticamente poblaciones procedentes de zonas alejadas y entre las cuales existe grandes profundidades, como en el caso de Azores y la Costa Norte y Noroeste de la Península, y diferenciar otras geográficamente más próximas como ocurre entre Almería y Vilanova o Melilla.

13.- Las características biológicas de *Scomber colias*, dada su gran capacidad migratoria, permite que exista un flujo genético efectivo derivado del movimiento de ejemplares adultos, que se desplazan alrededor de la Península, haciendo que estas poblaciones se mantengan genéticamente homogénea.



14.- Las poblaciones de Vilanova y Melilla se diferencian genéticamente del resto de las poblaciones del Mediterráneo, debido a los remolinos que se generan en el mar de Alborán, que probablemente impiden que los huevos y larvas de la población de Almería sean distribuidas hacia las áreas más al este de la Península y norte de África (i.e.: Melilla).

15.- Desde la perspectiva de la gestión pesquera estamos ante tres unidades poblacionales (demos), donde los diferentes stock alrededor de la Península Ibérica y Azores, deben ser gestionados de forma conjunta. Del mismo modo, el área del Mediterráneo Occidental debe gestionarse como otra unidad poblacional diferenciada. La población del Archipiélago Canario constituye una única unidad, posiblemente relacionada con el stock de la costa africana próxima. No obstante, es necesario tener en cuenta que esta estructuración está basada en datos genéticos que deben tomarse como una herramienta complementaria a otras disciplinas.

BIBLIOGRAFÍA/ANEXOS



- Aljanabi, S. M., & Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic acids research*, 25(22), 4692-4693.
- Allendorf, F. W., & Seeb, L. W. (2000). Concordance of genetic divergence among sockeye salmon populations at allozyme, nuclear DNA, and mitochondrial DNA markers. *Evolution*, 54(2), 640-651.
- Alvarez, J. P., Rodriguez-Ezpeleta, N., Cotano, U., Boyra, G., Uriarte, A. Sanchez, S., Aldanondo, N., Mendibil, I., Krug, I., Bachiller, E., Martin I. (2015). Propuesta para mejoras de la gestión del stock de Caballa (Scomber scombrus) en el Cantábrico. Elaborado por AZTI-Tecnalia para EUSKO JAURLARITZA - GOBIERNO VASCO, Ekonomiaren Garapen eta Lehiakortasun Saila Departamento de Desarrollo Económico y Competitividad, NekazaritzaKO, ArrantzaKO eta Elikagai Politikako Sailburuordetza - Viceconsejería de Agricultura, Pesca y Politica Alimentaria.
- Amos, W., & Harwood, J. (1998). Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical Transactions-Royal Society of London series B Biological Sciences*, 353, 177-186.
- Anderson, J. D., & Karel, W. J. (2012). Population Genetics of Southern Flounder with Implications for



Management. North American Journal of Fisheries Management, 32(4), 656-662.

- André, C., Larsson, L. C., Laikre, L., Bekkevold, D., Brigham,
 J., Carvalho, G. R., Dahlgren T. G., Hutchinson W. F.,
 Mariani S., Mudde K., Ruzzante D. E. & Ryman, N.
 (2011). Detecting population structure in a high geneflow species, Atlantic herring (*Clupea harengus*): direct,
 simultaneou+s evaluation of neutral vs putatively
 selected *loci. Heredity*, *106*(2), 270-280.
- Antao, T., Lopes, A., Lopes, R. J., Beja-Pereira, A., & Luikart, G. (2008). LOSITAN: a workbench to detect molecular adaptation based on a Fst-outlier method. *BMC bioinformatics*, 9(1), 323.
- Appleyard, S., Grewe, P., Innes, B., & Ward, R. (2001). Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western Pacific Ocean, inferred from microsatellite *loci. Marine Biology*, 139(2), 383-393.
- Armada, N., White, A. T., & Christie, P. (2009). Managing fisheries resources in Danajon Bank, Bohol, Philippines: an ecosystem-based approach. *Coastal Management*, 37(3-4), 308-330.
- Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K., & Nakayama, I. (1996). Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing

high concentration of urea. *Fisheries Science*, 62(5), 727-730.

- Astorga N. (2005). Estudio genético de las deformidades esqueléticas en columna en dorada (*Sparus aurata*, L.) en condiciones de cultivo intensivo. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 285 pp.
- Avise, J. C. (1998). Conservation genetics in the marine realm. *Journal of Heredity*, 89(5), 377-382.
- Avise, J. C. (ed.). (2004). Molecular markers, natural history and evolution. Second edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Bagley, M. J., Lindquist, D. G., & Geller, J. B. (1999). Microsatellite variation, effective population size, and population genetic structure of vermilion snapper, *Rhomboplites aurorubens*, off the southeastern USA. *Marine Biology*, 134(4), 609-620.
- Barahona Padilla, S. P. (2014). Utilización de *loci* microsatélites
 y ADN mitocondrial para evaluar la estructuración
 genético-poblacional de la caballa (*scomber japonicus*Houttuyn, 1782) en el mar peruano. Tesis Doctoral. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*.108pp.
- Bargelloni, L., Alarcon, J. A., Alvarez, M. C., Penzo, E., Magoulas, A., Reis, C., & Patarnello, T. (2003). Discord in the family *Sparidae* (Teleostei): divergent



phylogeographical patterns across the Atlantic– Mediterranean divide. *Journal of Evolutionary Biology*, *16*(6), 1149-1158.

- Bas, C., Castro, J. J., Hernández-García, V., Lorenzo, J. M., Moreno, T., Pajuelo, J. G., & Ramos, A. G. (1995). La Pesca en Canarias y áreas de influencia. *Ediciones del Cabildo Insular de Gran Canaria*. Las Palmas, España.
- Beaumont, M. A., & Nichols, R. A. (1996). Evaluating *loci* for use in the genetic analysis of population structure. *Proceedings of the Royal Society of London*. *Series B: Biological Sciences*, 263(1377), 1619-1626.
- Bécognée, P., Moyano, M., Almeida, C., Rodríguez, J. M., Fraile-Nuez, E., Hernández-Guerra, A., & Hernández-León, S. (2009). Mesoscale distribution of clupeoid larvae in an upwelling filament trapped by a quasipermanent cyclonic eddy off Northwest Africa. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 56(3), 330-343.
- Begg, G. A., & Waldman, J. R. (1999). An holistic approach to fish stock identification. *Fisheries research*, 43(1), 35-44.
- Begg, G. A., Friedland, K. D., & Pearce, J. B. (1999a). Stock identification and its role in stock assessment and

fisheries management: an overview. *Fisheries Research*, 43(1), 1-8.

- Begg, G. A., Hare, J. A., & Sheehan, D. D. (1999b). The role of life history parameters as indicators of stock structure. *Fisheries Research*, 43(1), 141-163.
- Bekkevold, D., André, C., Dahlgren, T. G., Clausen, L. A., Torstensen, E., Mosegaard, H., Carvalho, G. R., Christensen, T. Norlinder E. & Ruzzante, D. E. (2005).
 Environmental correlates of population differentiation in Atlantic herring. *Evolution*, 59(12), 2656-2668.
- Booke, H. E. (1999). The stock concept revisited: perspectives on its history in fisheries. *Fisheries Research*, 43(1), 9-11.
- Bradbury, I. R., Hubert, S., Higgins, B., Bowman, S., Borza, T.,
 Paterson, I. G., Snelgrove, P. V.R., Morris, C. J.,
 Gregory, R. S., Hardie, D., Hutchings, J., A., Ruzzante,
 D. E., Taggart, C. T. & Bentzen, P. (2013). Genomic islands of divergence and their consequences for the resolution of spatial structure in an exploited marine fish.*Evolutionary Applications*, 6(3), 450-461.
- Brookfield, J. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*, 5(3), 453-455.



- Bruford, M. W., Cheesman, D. J., Coote, T., Green, H. A., Haines, S. A., O'Ryan, C., & Williams, T. R. (1996). Microsatellites and their application to conservation genetics. *Molecular genetic approaches in conservation*, 278-297.
- Buonaccorsi, V. P., McDowell, J. R., & Graves, J. E. (2001). Reconciling patterns of inter-ocean molecular variance from four classes of molecular markers in blue marlin (*Makaira nigricans*). *Molecular Ecology*, 10(5), 1179-1196.
- Cárdenas, L., Silva, A. X., Magoulas, A., Cabezas, J., Poulin, E., & Ojeda, F. P. (2009). Genetic population structure in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* (Nichols) across the South-eastern Pacific Ocean. *Fisheries Research*, 100(2), 109-115.
- Carlsson, J., McDowell, J. A. N., Díaz-Jaimes, P., Carlsson, J. E., Boles, S. B., Gold, J. R., & Graves, J. E. (2004).
 Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea.*Molecular Ecology*, 13(11), 3345-3356.
- Carvalho, N., Perrotta, R. G., & Isidro, E. (2002). Age, growth and maturity in the chub mackerel (*Scomber japonicus*

Houttuyn, 1782) from the Azores. Archipéago Ciências Biológicas e Marinhas 19, 107-115.

- Castillo, A. G., Alvarez, P., & García-Vazquez, E. (2005). Population structure of Merluccius merluccius along the Iberian Peninsula coast. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 62(8), 1699-1704.
- Castro, J. J. (1991). Ecología trófica de la caballa (Scomber japonicus Houttuyn, 1780), en aguas del archipiélago canario. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 229pp.
- Castro, J. J., & Santana, A. T. (2000). Synopsis of biological data on the chub mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782) (No. 157). Food & Agriculture Org.
- Castro J. J., Santiago J. A., Santana-Ortega A. T. (2001). A general theory on fish aggregation to floating objects: an alternative to the meeting point hypothesis. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*.11, 255-277.
- Catanese, G., Manchado, M., & Infante, C. (2010). Evolutionary relatedness of mackerels of the genus Scomber based on complete mitochondrial genomes: strong support to the recognition of Atlantic Scomber colias and Pacific Scomber japonicus as distinct species. Gene, 452(1), 35-43.



- Catanese G.; Pérez L.; Funes V. 2007. Diferenciación genética del estornino (*Scomber colias*), procedente del litoral Andaluz, mediante análisis de la región mitocondrial ATCO. XI Congreso Nacional de Acuicultura. Genética y Reproducción.; 263-266; Fundación OESA; CIMA. Xunta de Galicia.; Vigo; España.; 978-84-611-9085-0; PO 639-2007.
- Cavalli-Sforza, L. L., & Edwards, A. W. (1967). Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *American journal of human genetics*, 19(3 Pt 1), 233.
- Cha, H. K., An, H. S., Choi, J. H., Kang, S., Park, J. Y., & Kim, K. K. (2010). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers for genetic analysis of chub mackerel (*Scomber japonicus*). *Conservation Genetics Resources*, 2(1), 7-9.
- Chakraborty, R. (1992). Sample size requirements for addressing the population genetic issues of forensic use of DNA typing. Human biology, 141-159.
- Chakraborty, R., Kimmel, M., Stivers, D. N., Davison, L. J., & Deka, R. (1997). Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite *loci*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(3), 1041-1046.
- Chakraborty, A., Sakai, M., & Iwatsuki, Y. (2006). Museum fish specimens and molecular taxonomy: A comparative

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo study on DNA extraction protocols and preservation techniques. *Journal of Applied Ichthyology*, 22(2), 160-166.

- Chapuis, M. P., & Estoup, A. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular biology and evolution*, 24(3), 621-631.
- Cheng, J., Gao, T., Miao, Z. & Yanagimoto, T. (2011). Molecular phylogeny and evolution of *Scomber* (Teleostei: *Scombridae*) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29 (2), 297-310.
- Cheng, J., Yanagimoto, T., Song, N., & Gao, T. X. (2015). Population genetic structure of chub mackerel Scomber japonicus in the Northwestern Pacific inferred from microsatellite analysis. Molecular biology reports, 1-10.
- Cheng, Q., Zhu, Y., & Chen, X. (2014). High polymorphism and moderate differentiation of chub mackerel, *Scomber japonicus* (Perciformes: Scombridae), along the coast of China revealed by fifteen novel microsatellite markers. *Conservation Genetics*, 15(5), 1021-1035.
- Ciechomski, J. D., & Capezzani, D. A. (1969). Fecundity of the Argentinean mackerel *Scomber japonicus marplatensis. Marine Biology*, 2(3), 277-282.



- Cimmaruta, R., Bondanelli, P., & Nascetti, G. (2005). Genetic structure and environmental heterogeneity in the European hake (*Merluccius merluccius*).*Molecular* ecology, 14(8), 2577-2591.
- Collete B. B. (1986). Scombridae. In: Whitehead, P. J. P., Bauchot, M. L., Hureau, J. C., Nielsen, J., & Tortonese, E. Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean, volume 3. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization. 981-997pp.
- Collette B. B. (1999). Mackerels, molecules, and morphology.
 In: Séret B, Sire J-Y (eds) Proc 5th Indo-Pacific Fish
 Conf, Nouméa, 1997. Soc. Fr. Ichtyol. Paris. 149-164 pp.
- Collette, B. B. (2003). Family Scombridae Rafinesque 1815: mackerels, tunas, and bonitos. In: Annotated Checklist of Fishes No. 19, by Calif. Acad. Sci., (ed) San Francisco. California. 28 pp.
- Collette, B., & Nauen, C. (1983). FAO species volume 2. Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date. *FAO Fisheries Synopsis*, *125*.
- Collette, B. B., Reeb, C., & Block, B. A. (2001). Systematics of the tunas and mackerels (*Scombridae*). *Fish Physiology*, 19.

- Cornuet, J. M., & Luikart, G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data.*Genetics*, 144(4), 2001-2014.
- Costagliola, D., Robertson, D. R., Guidetti, P., Stefanni, S., Wirtz, P., Heiser, J. B., & Bernardi, G. (2004). Evolution of coral reef fish *Thalassoma* spp. (Labridae). 2. Evolution of the eastern Atlantic species. *Marine Biology*, 144(2), 377-383.
- Cousseau, M. B., Angelescu, V. A., & Perrotta, R. G. (1987). Algunas características de la estructura y del comportamiento migratorio de los cardúmenes de caballa (*Scomber japonicus marplatensis*) en la plataforma bonaerense (Mar Argentino); período 1965-1984.
- Cowen, R. K., & Sponaugle, S. (2009). Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual review of marine science*, *1*, 443-466.
- Cuyás, C., Castro, J. J., Santana-Ortega, A. T., & Carbonell, E. (2004). Insular stock identification of *Serranus atricauda* (Pisces: Serranidae) through the presence of *Ceratothoa steindachneri* (Isopoda, Cymothoidae) and *Pentacapsula cutanea* (Myxozoa, Pentacapsulidae) in the Canary Islands. *Scientia Marina*, 68(1), 159-163.



- Dakin, E. E., & Avise, J. C. (2004). Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*, 93(5), 504-509.
- Dawson, M. N., Raskoff, K. A., & Jacobs, D. K. (1998). Field preservation of marine invertebrate tissue for DNA analyses. *Molecular marine biology and biotechnology*, 7(2), 145-152.
- Dawson, M. N., Staton, J. L., & Jacobs, D. K. (2001). Phylogeography of the tidewater goby, *Eucyclogobius* newberryi (Teleostei, Gobiidae), in coastal California. Evolution, 55(6), 1167-1179.
- Dempster, A. P., Laird, N. M., & Rubin, D. B. (1977). Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the royal statistical society. Series B (methodological)*, 1-38.
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M., & Freimer, N. B. (1994). Mutational processes of simple-sequence repeat *loci* in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(8), 3166-3170.
- Drinkwater, K., Lochman, S., Taggart, C., Thompson, K., & Frank, K. (2000). Entrainment of redfish (*Sebastes* spp.) larvae off the Scotian Shelf. *ICES Journal of Marine Science*, 57(2), 372-382.

- Durand, J. D., Collet, A., Chow, S., Guinand, B., & Borsa, P. (2005). Nuclear and mitochondrial DNA markers indicate unidirectional gene flow of Indo-Pacific to Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*) populations, and their admixture off southern Africa. *Marine Biology*, 147(2), 313-322.
- Earl, D. A. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method.*Conservation genetics resources*, 4(2), 359-361.
- Erguden, D., Öztürk, B., Erdogan, Z. A., & Turan, C. (2009). Morphologic structuring between populations of chub mackerel *Scomber japonicus* in the Black, Marmara, Aegean, and northeastern Mediterranean Seas. *Fisheries Science*, 75(1), 129-135.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study.*Molecular* ecology, 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows.*Molecular ecology resources*, 10(3), 564-567.



- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked *loci* and allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567-1587.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2007). Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular ecology notes*, 7(4), 574-578.
- Fauvelot, C., & Borsa, P. (2011). Patterns of genetic isolation in a widely distributed pelagic fish, the narrow-barred Spanish mackerel (*Scomberomorus commerson*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 104(4), 886-902.
- FAO. (2008). Report of the FAO working group. Workshop on the assessment of small pelagic fish off northwest Africa. Agadir, Morocco, 17-26 April 2007. FAO Fisheries Report 849, 1-248.
- FAO. (2010-2013). Fisheries Global Information System (FAO-FIGIS) In: FAO Fisheries and Aquaculture Department

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo

[online]. Rome. http://www.fao.org/fishery/figis/en [Cited 24 January 2013].

- FAO. (2011). Aquaculture Department. 2013. Global Aquaculture Production Statistics for the year.
- FAO. (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura.Oportunidades y desafíos. FAO. Roma. 274pp.
- Fazeres M. I. (2007). Estudio de la biología del sargo blanco, Diplodus sargus cadenati de la Paz, Bauchot y Daget 1974, en aguas de Canarias: infleuncias de las características geográficas y climáticas del archipiélago. Tesis Doctoral. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. 258pp.
- Ferrara, G., Murgia, B., Parodi, A., Valisano, L., Cerrano, C., Palmisano, G., Bavestrello G. & Sara, M. (2006). The assessment of DNA from marine organisms via a modified salting-out protocol. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 11(2), 155-160.
- Forciniti, L., & Perrotta, R. G. (1988). Sobre la edad y el crecimiento de la caballa (Scomber japonicus) de Mar del Plata. Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero, 8, 19-32.
- Fortier, L., & Leggett, W. C. (1985). A drift study of larval fish survival. *Marine* ecology progress series. Oldendorf, 25(3), 245-257.



- Galarza, J. A. (2007). Patterns and causes of population subdivision in the marine environment. Tesis Doctoral. University of Hull. 187pp.
- Galarza, J. A., Carreras-Carbonell, J., Macpherson, E., Pascual, M., Roques, S., Turner, G. F., & Rico, C. (2009a). The influence of oceanographic fronts and early-life-history traits on connectivity among littoral fish species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(5), 1473-1478.
- Galarza, J. A., Turner, G. F., Macpherson, E., & Rico, C. (2009b). Patterns of genetic differentiation between two co-occurring demersal species: the red mullet (*Mullus barbatus*) and the striped red mullet (*Mullus surmuletus*).*Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 66(9), 1478-1490.
- García, M. P., Benavente, M. F., Melo, A. A., Roa, E. I., & Roa, S. J. C. (2006). Efecto de la fijación en la calidad del ADN: estudio controlado con cinco fijadores. *Revista española de patología*, 39(3), 175-179.
- Giger, T., Excoffier, L., Day, P. J., Champigneulle, A., Hansen, M. M., Powell, R., & Largiadèr, C. R. (2006). Life history shapes gene expression in salmonids. *Current Biology*, 16(8), R281-R282.

- Goldstein, D. B., Schötterer, C. (1999). Microsatellites: Evolution and Applications. Oxford University Press. United Kingdom. 352 pp.
- González, J.A. (2008). Memoria científico-técnica final sobre el Estado de los Recursos Pesqueros de Canarias (REPESCAN). (González, J.A. eds.), *Instituto Canario* de Ciencias Marinas, Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información, Gobierno de Canarias. Telde (Las Palmas). 210pp.
- González, E. G., Beerli, P., & Zardoya, R. (2008). Genetic structuring and migration patterns of Atlantic bigeye tuna, *Thunnus obesus* (Lowe, 1839). *BMC Evolutionary Biology*, 8(1), 252.
- Grant, W. A. S., & Bowen, B. W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89(5), 415-426.
- Graves, J. E. (1998). Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. *Journal of Heredity*, 89(5), 427-437.
- Graves, J. E., & McDowell, J. R. (2003). Stock structure of the world's istiophorid billfishes a genetic perspective. *Marine and Freshwater Research*, 54(4), 287-298



- Guo, S. W., & Thompson, E. A. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 361-372.
- Hale, M. L., Burg, T. M., & Steeves, T. E. (2012). Sampling for microsatellite-based population genetic studies: 25 to 30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies. *PloS one*, 7(9), e45170.
- Hartl, D. L., & A. G. Clark. 2007. Principles of Population Genetics. 4th ed. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Massachusett, USA. 651 pp.
- Hauser, L., & Ward, R. D. (1998). Population identification in pelagic fish: the limits of molecular markers. NATO ASI Series a Life Sciences, 306, 191-224.
- Hellberg, M. E., Burton, R. S., Neigel, J. E., & Palumbi, S. R. (2002). Genetic assessment of connectivity among marine populations. *Bulletin of marine science*, 70 (Supplement 1), 273-290.
- Hedgecock, D. (1994). Does variance in reproductive success limit effective population sizes of marine organisms. *Genetics and evolution of aquatic organisms*, 122-134.
- Hernández-García, V., Hernández-López, J. L., & Castro, J. J. (1998). The octopus (*Octopus vulgaris*) in the small-

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo scale trap fishery off the Canary Islands (Central-East Atlantic). *Fisheries Research*, *35*(3), 183-189.

- Hernández-León, S., Gomez, M., & Arístegui, J. (2007). Mesozooplankton in the Canary Current System: The coastal ocean transition zone. *Progress in Oceanography*, 74(2), 397-421.
- Hinton, M. G., & Bremer, J. A. (2007, May). Stock structure of swordfish in the Pacific Ocean. In IATTC Working Group to Review Stock Assessments, 8th Meeting, La Jolla, CA (pp. 7-11).
- Hilborn R, Walters CJ (1992) Quantitative Fisheries StockAssessment: Choice, Dynamics and Uncertainty.Chapman & Hall, New York and London.
- Hillis, D. M., C. Moritz and B. K. Mable (ed.). 1996. Molecular systematics. 2nd. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Hoarau, G., Boon, E., Jongma, D. N., Ferber, S., Palsson, J., Van der Veer, H. W., Rijnsdorp A. D., Stam W. T. & Olsen, J. L. (2005). Low effective population size and evidence for inbreeding in an overexploited flatfish, plaice (*Pleuronectes platessa* L.).*Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1562), 497-503.



- Huete-Pérez, J. A., & Quezada, F. (2013). Genomic approaches in marine biodiversity and aquaculture. *Biological research*, 46(4), 353-361.
- Hunter, J. R., & Kimbrell, C. A. (1980). Early life history of Pacific mackerel, *Scomber japonicus*. Fish. Bull, 78(1), 89-101.
- Hutchinson, W. F., Carvalho, G. R., & Rogers, S. I. (2001). Marked genetic structuring in localised spawning populations of cod *Gadus morhua* in the North Sea and adjoining waters, as revealed by microsatellites. *Marine Ecology Progress Series*, 223, 243-250.
- INE 2011. Anuário Estatístico de Portugal. Year book of Portugal. Instituto Nacional de Estatística, I.P.
- Infante, C., Blanco, E., Zuasti, E., Crespo, A., & Manchado, M. (2007). Phylogenetic differentiation between Atlantic *Scomber colias* and Pacific *Scomber japonicus* based on nuclear DNA sequences. *Genetica*, 130(1), 1-8.
- Jensen, J. L., Bohonak, A. J., & Kelley, S. T. (2005). Isolation by distance, web service. *BMC genetics*, 6(1), 13.
- Jones, A. G., & Avise, J. C. (1997). Polygynandry in the dusky pipefish Syngnathus floridae revealed by microsatellite DNA markers. Evolution, 1611-1622.

- Jorde, P. E., & Ryman, N. (1996). Demographic genetics of brown trout (*Salmo trutta*) and estimation of effective population size from temporal change of allele frequencies. *Genetics*, 143(3), 1369-1381.
- Jørstad, K. E., Skaala, Ø., & Dahle, G. (1991). The development of biochemical and visible genetic markers and their potential use in evaluating interaction between cultured and wild fish populations. In *ICES Marine Science Symposium* (Vol. 192, pp. 200-205).
- Juan-Jordá, M. J. (2013). Global population trajectories, life history strategies and vulnerability to fishing of scombrid species: implications for conservation and management. Tesis Doctoral. Universidad de La Coruña. 333pp.
- Kalinowski, S. T. (2005). Hp-rare 1.0: A computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, 5(1), 187-189.
- Kasapidis, P., & Magoulas, A. (2008). Development and application of microsatellite markers to address the population structure of the horse mackerel Trachurus trachurus. *Fisheries Research*, 89(2), 132-135.
- Kasapidis, P., Silva, A., Zampicinini, G., & Magoulas, A. (2011). Evidence for microsatellite hitchhiking selection in European sardine (*Sardina pilchardus*) and



Marina, 76(1), 123-132.

- Kenchington, E., Heino, M., & Nielsen, E. E. (2003). Managing marine genetic diversity: time for action? *ICES Journal* of Marine Science: Journal du Conseil, 60(6), 1172-1176.
- Kiparissis, S., Tserpes, G., & Tsimenidis, N. (2000). Aspects on the demography of Chub Mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782) in the Hellenic Seas. Belgian Journal Zoology, 130(1), 3-7.
- Knutsen, H., Jorde, P. E., André, C., & Stenseth, N. C. H. R. (2003). Fine-scaled geographical population structuring in a highly mobile marine species: the Atlantic cod. *Molecular ecology*, 12(2), 385-394.
- Kotoulas, G., Magoulas, A., Tsimenides, N., & Zouros, E. (1995). Marked mitochondrial DNA differences between Mediterranean and Atlantic populations of the swordfish, *Xiphias gladius. Molecular Ecology*, 4(4), 473-482.
- Kramer, D. (1969). Synopsis of the biological data on the Pacific mackerel, *Scomber japonicus, Houttuyn* (*Northeast Pacific*) (Vol. 302). The Bureau.
- Kumar, S., Nei, M., Dudley, J., & Tamura, K. (2008). MEGA: a biologist-centric software for evolutionary analysis of

DNA and protein sequences. *Briefings in bioinformatics*, 9(4), 299-306.

- Lamprea, N., López, L., Santacruz, D., Guerrero, J., & Burbano, C. (2004). Modificaciones técnicas en el uso de microsatélites y AFLP para el estudio poblacional de diversas especies de peces en el río Sinú, Colombia. *Revista colombiana de biotecnología*, 6(1), 72-78.
- Landry, P. A., Koskinen, M. T., & Primmer, C. R. (2002). Deriving Evolutionary Relationships Among Populations Using Microsatellites and (δμ) 2: All *Loci* Are Equal, but Some Are More Equal Than Others.... *Genetics*, 161(3), 1339-1347.
- Langella O. (2005). POPULATIONS 1.2.30. Laboratoire Populations, Gènètique et Evolution, Centre Nacional de la Recherche Scientifique, CNRS UPR9034, Gif Sur Yvette.
- Laikre, L., Palm, S., & Ryman, N. (2005). Genetic population structure of fishes: implications for coastal zone management. AMBIO: A Journal of the Human Environment, 34(2), 111-119.
- Lin, Y. Y. (1998). Population genetic structure of Scomber australasicus and *Scomber japonicus* fisheries resources (Doctoral dissertation, Master Thesis of



Institute of Oceanography, National Taiwan University (in Chinese with English abstract)).

- Litt, M., & Luty, J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene.*American journal of human genetics*, 44(3), 397.
- Lo Brutto, S., Arculeo, M., & Parrinello, N. (2004). Congruence in genetic markers used to describe Mediterranean and Atlantic populations of European hake (*Merluccius merluccius* L. 1758). Journal of Applied Ichthyology, 20(2), 81-86.
- Lopera-Barrero, N. M., Povh, J. A., Ribeiro, R. P., Gomes, P. C., Jacometo, C. B., & Silva Lopes, T. D. (2008).
 Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e investigación agraria*, 35(1), 77-86.
- Lorenzo N., J. M., & González P., J. M. (1996). Determinación del crecimiento de la caballa Scomber japonicus (Houttuyn, 1782) de las islas Canarias a través del análisis de las frecuencias de tallas. Boletín. Instituto Español de Oceanografía, 12(2), 83-90.
- Lorenzo, J. M., Pajuelo, J. G., & Ramos, A. G. (1995). Growth of the chub mackerel *Scomber japonicus* (Pisces:

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo Scombridae) off the Canary Islands. *Scientia Marina*, 59, 287-291.

- Luikart, G., England, P. R., Tallmon, D., Jordan, S., & Taberlet,
 P. (2003). The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing.*Nature Reviews Genetics*, 4(12), 981-994.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer research*, 27(2 Part 1), 209-220.
- Mardis, E. R. (2008). The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in genetics*, 24(3), 133-141.
- Martínez, S. J. (2011). Análisis del estado de los recursos pesqueros de Gran Canaria a partir del estudio de las series históricas de captura. Tesis-Master. *Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*. 41pp.
- Martins, M. M., Skagen, D., Marques, V., Zwolinski, J., & Silva, A. (2013). Changes in the abundance and spatial distribution of the Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) in the pelagic ecosystem and fisheries off Portugal. *Scientia Marina*, 77(4), 551-563.
- Masqué, P., Fabres, J., Canals, M., Sanchez-Cabeza, J. A.,Sanchez-Vidal, A., Cacho, I., Calafat, A. M. & Bruach,J. M. (2003). Accumulation rates of major constituents of


hemipelagic sediments in the deep Alboran Sea: a centennial perspective of sedimentary dynamics. *Marine Geology*, *193*(3), 207-233.

- McCairns, R. S., Kuparinen, A., Panda, B., Jokikokko, E., & Merilä, J. (2012). Effective size and genetic composition of two exploited, migratory whitefish (*Coregonus lavaretus lavaretus*) populations. *Conservation Genetics*, 13(6), 1509-1520.
- Mertz, G., & Myers, R. A. (1996). Influence of fecundity on recruitment variability of marine fish. *Canadian Journal* of Fisheries and Aquatic Sciences, 53(7), 1618-1625.
- Montoya, N. G., Akselman, R., Pajaro, M., Perrotta, R. G., & Carreto, J. I. (1997). Mortandad de caballa Scomber japonicus en la plataforma bonaerense (Mar Argentino) asociada a un florecimiento del dinoflagelado tóxico Alexandrium tamarense. Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero, 11, 145-152.
- Moyano, M. (2009). Temporal and spatial distribution of the ichthyoplankton in the Canary Islands. Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 287pp.
- Nagy, Z. T. (2010). A hands-on overview of tissue preservation methods for molecular genetic analyses. Organisms Diversity & Evolution, 10(1), 91-105.

- Nielsen, E. E., Hansen, M. M., & Meldrup, D. (2006). Evidence of microsatellite hitch-hiking selection in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): implications for inferring population structure in nonmodel organisms. *Molecular Ecology*, 15(11), 3219-3229.
- Nielsen, E. E., Nielsen, P. H., Meldrup, D., & Hansen, M. M. Genetic population structure (2004).of turbot (Scophthalmus maximus L.) supports the presence of multiple hybrid zones for marine fishes in the transition Baltic zone between the Sea and the North Sea. *Molecular Ecology*, 13(3), 585-595.
- O'Connell, M. & Wright, J. M. (1997). Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7(3), 331-363.
- Olafsdottir, G., Olafsson, K., Skirnisdottir, S., Oskarsson, G. J., Kohlbach, D., Franklinsdottir, H., Klitgaard C. E.; Morneau R.; Chevrier A.; Pampoulie C.; Helyar S.; & Danielsdottir, A. K. (2013). Isolation and characterization of thirty microsatellite *loci* for Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Conservation Genetics Resources*, 5(2), 491-494.
- O'Leary, S. J., Hice, L. A., Feldheim, K. A., Frisk, M. G., McElroy, A. E., Fast, M. D., & Chapman, D. D. (2013).



Severe inbreeding and small effective number of breeders in a formerly abundant marine fish.

- Ortloff, A. R., Peña, P. A., & Ildefonso, R. (2011). Efecto de tres ambientes de transporte sobre el tiempo de aparición de la autólisis en muestras de alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Archivos de medicina veterinaria, 43(3), 307-312.
- Pacheco, M. M., & Hernandez-Guerra, A. (1999). Seasonal variability of recurrent phytoplankton pigment patterns in the Canary Islands area.*International Journal of Remote Sensing*, 20(7), 1405-1418.
- Page, R. D. (1996). TreeView. An application to display phylogenetic trees on personal computer. *Computer Applications in the Biological Sciences*, 12, 357-358.
- Palo, J. U., O'Hara, R. B., Laugen, A. T., Laurila, A., Primmer, C. R., & Merilä, J. (2003). Latitudinal divergence of common frog (Rana temporaria) life history traits by natural selection: evidence from a comparison of molecular and quantitative genetic data. *Molecular Ecology*, 12(7), 1963-1978.
- Palumbi, S. R. (1994). Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. Annual Review of Ecology and Systematics, 547-572.

- Papetti, C., Di Franco, A., Zane, L., Guidetti, P., De Simone, V., Spizzotin, M., Zorica B., Čikeš Keč V. & Mazzoldi, C. (2013). Single population and common natal origin for Adriatic Scomber scombrus stocks: evidence from an integrated approach.*ICES Journal of Marine Science:* Journal du Conseil, fss201.
- Patarnello, T., Volckaert, F. A., & Castilho, R. (2007). Pillars of Hercules: is the Atlantic–Mediterranean transition a phylogeographical break? *Molecular ecology*, 16(21), 4426-4444.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539.
- Pemberton, J. M., Slate, J., Bancroft, D. R., & Barrett, J. A. (1995). Nonamplifying alleles at microsatellite *loci*: a caution for parentage and population studies. *Molecular ecology*, 4(2), 249-252.
- Pelegrí, J. L., Arístegui, J., Cana, L., González-Dávila, M., Hernández-Guerra, A., Hernández-León, S., Marrero-Díaz, Á., Montero., M. F., Sangrà, P. & Santana-Casiano, M. (2005). Coupling between the open ocean and the coastal upwelling region off northwest Africa:



water recirculation and offshore pumping of organic matter. *Journal of Marine Systems*, 54(1), 3-37.

- Perrotta, R. G. (1992). Growth of mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782) from the Buenos Aires-north patagonian region (Argentine Sea). *Scientia Marina*, 56(1), 7-16.
- Perrotta, R. G., & Christiansen, H. E. (1993). Estimación de la frecuencia reproductiva y algunas consideraciones acerca de la pesca de la caballa (*Scomber japonicus*) en relación con el comportamiento de los cardúmenes.*Physis* (*Buenos Aires*), Secc. A, 48(114-115), 1-14.
- Perrotta, R. G., & Forciniti, L. (1994). Un análisis del crecimiento de la caballa (*Scomber japonicus*) en dos áreas de su distribución. *Frente Marítimo*, 15, 101-109.
- Perrotta, R. G., Aubone, A., & Sánchez, M. F. (1990). Estudio comparado de los caracteres morfométricos y merísticos de la caballa (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782) (Teleostei: Scombridae) del sur de Brasil y del área marplatense (Mar Argentino). *Scientia Marina*, 54(1), 47-53.
- Perrotta, R. G., Carvalho, N., & Isidro, E. (2005). Comparative study on growth of chub mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782) from three different regions: NW Mediterranean, NE and SW Atlantic. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero, 17*, 67-79.

- Perrotta, R. G., Garciarena, A. D., Madirolas, A., & Cabreira, A. (2009). Muestreo de desembarque de caballa (*Scomber japonicus*) en el puerto de Mar del Plata, período noviembre 2003-diciembre 2004 y resultados de la campaña de estimación de la biomasa de diciembre de 2004.
- Perrotta, R. G., Madirolas, A., Viñas, M. D., Akselman, R., Guerrero, R. A., Sánchez, M. F., López F., Castro M. F. & Macchi, G. J. (1999). La caballa (*Scomber japonicus*) y las condiciones ambientales en el área bonaerense de El Rincón (39°-40° 30'S), agosto 1996.
- Piñera, J. A., Bernardo, D., Blanco, G., Vázquez, E., & Sánchez,
 J. A. (2006). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Pagellus bogaraveo*, and cross-species amplification in *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 33-35.
- Piry, S., Luikart, G., & Cornuet, J. M. (1999). BOTTLENECK: a program for detecting recent effective population size reductions from allele data frequencies. *Montpellier*, *France*.
- Pomeroy, R. S., & Andrew, N. (Eds.). (2011). Small-scale fisheries management: frameworks and approaches for the developing world. Cabi.



- Popescu I., & Ortega J. J. (2013). Fisheries in the Canary Islands. Note. Directorate General for Internal Policies.Policy Departament B: Structural and Cohesion Policies.Fisheries.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Quinteiro V. J. (2010). Filogenia Molecular, Estructura Poblacional y Trazabilidad Genética de Escómbridos (Pisces: Scombridae). Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. España. 295pp.
- Raymond, M., & Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of heredity*, 86(3), 248-249.
- Reiss, H., Hoarau, G., Dickey-Collas, M., & Wolff, W. J. (2009). Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish and Fisheries*, 10(4), 361-395.
- Rice, W. R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 223-225.
- Rico, C., Rico, I., & Hewitt, G. (1996). 470 million years of conservation of microsatellite *loci* among fish species. *Proceedings of the Royal Society of London*. *Series B: Biological Sciences*, 263(1370), 549-557.

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa ______(*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo

- Ryman, N., & Utter, F. (1987). Population genetics and fishery management. University of Washington Press. 420pp.
- Roberts, D., & Ayre, D. (2010). Panmictic population structure in the migratory marine sparid *Acanthopagrus australis* despite its close association with estuaries. *Marine Ecology - Progress Series*, 412, 223-230.
- Rodríguez, J. M., Barton, E. D., Eve, L., & Hernández-León, S. (2001). Mesozooplankton and ichthyoplankton distribution around Gran Canaria, an oceanic island in the NE Atlantic. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 48(10), 2161-2183.
- Rodríguez, J. M., Hernández-León, S., & Barton, E. D. (1999).
 Mesoscale distribution of fish larvae in relation to an upwelling filament off Northwest Africa. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 46(11), 1969-1984.
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources*, 8(1), 103-106.
- Ruzzante, D. E., Mariani, S., Bekkevold, D., André, C., Mosegaard, H., Clausen, L. A., Dahlgren, T. G., Hutchison, W. F., Hatfield, E. M. C., Torstensen, E., Brigham, J., Simmonds, E. J., Laikre, L., Larsson, L. C., Stet, R. J. M., Ryman. N. & Carvalho, G. R. (2006).



Biocomplexity in a highly migratory pelagic marine fish, Atlantic herring. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1593), 1459-1464.

- Ruzzante, D. E., Taggart, C. T., Cook, D., & Goddard, S. V. (1997). Genetic differentiation between inshore and offshore Atlantic cod (*Gadus morhua*) off Newfoundland: a test and evidence of temporal stability. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(11), 2700-2708.
- Sabeti, P. C., Schaffner, S. F., Fry, B., Lohmueller, J., Varilly,
 P., Shamovsky, O., Palma, A. Mikkelsen, T. S. Altshuler,
 D. & Lander, E. S. (2006). Positive natural selection in the human lineage. *Science*, *312*(5780), 1614-1620.
- Sala-Bozano, M., Ketmaier, V., & Mariani, S. (2009). Contrasting signals from multiple markers illuminate population connectivity in a marine fish. *Molecular Ecology*, 18(23), 4811-4826.
- Sangrà, P., Pascual, A., Rodríguez-Santana, Á., Machín, F., Mason, E., McWilliams, J. C., Pelegrí, J. L., Dong, C., Rubio, A., Arístegui, J., Marrero-Díaz, Á., Hernández-Guerra, A., Martínez-Marrero, A. & Auladell, M. (2009). The Canary Eddy Corridor: A major pathway for longlived eddies in the subtropical North Atlantic. *Deep Sea*

Research Part I: Oceanographic Research Papers, 56(12), 2100-2114.

- Schaefer, K. M. (1980). Synopsis of biological data on the chub mackerel, *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782, in the Pacific Ocean. *Spec. Rep. Inter-Am. trop. Tuna Commn*, 2, 395-446.
- Schlötterer, C. (2004). The evolution of molecular markers-just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics*, 5(1), 63-69.
- Scoles, D. R., Collette, B. B., & Graves, J. E. (1998). Global phylogeography of mackerels of the genus Scomber. Fishery Bulletin-National Oceanic and Atmospheric administration, 96, 823-842.
- Scribner, K. T., Gust, J. R., & Fields, R. L. (1996). Isolation and characterization of novel salmon microsatellite *loci*: cross-species amplification and population genetic applications. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(4), 833-841.
- Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology letters*, 9(5), 615-629.
- Shaw, P. W. (1997). Multiple paternity within the brood of single females of *Loligo forbesi* (Cephalopoda:



Loliginidae), demonstrated with microsatellite DNA markers. *Marine Ecology Progress Series*, 160, 279-282.

- Shaw, P. W., & Boyle, P. R. (1998). Multiple paternity within the brood of single females of *Loligo forbesi* (Cephalopoda: *Loliginidae*), demonstrated with microsatellite DNA markers. *Oceanographic Literature Review*, 8(45), 1378.
- Shaw, P. W., Turan, C., Wright, J. M., O'Connell, M., & Carvalho, G. R. (1999). Microsatellite DNA analysis of population structure in Atlantic herring (*Clupea harengus*), with direct comparison to allozyme and mtDNA RFLP analyses. *Heredity*, 83(4), 490-499.
- Sever, T. M., Bayhan, B., Bilecenoglu, M., & Mavili, S. (2006). Diet composition of the juvenile chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the Aegean Sea (Izmir Bay, Turkey). *Journal of Applied Ichthyology*, 22(2), 145-148.
- Smedbol, R. K., & Stephenson, R. (2001). The importance of managing within-species diversity in cod and herring fisheries of the north-western Atlantic. *Journal of Fish Biology*, 59(sA), 109-128.
- Slatkin, M. (1981). Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics*, 99(2), 323-335.
- Slatkin, M. (1985). Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 53-65.

Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa ______(*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo

- Slatkin, M., & Hudson, R. R. (1991). Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129(2), 555, J. F. (2005). INVITED REVIEW: Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology*, 14(3), 671-688.
- Stamatis, C., Triantafyllidis, A., Moutou, K. A., & Mamuris, Z. (2004). Mitochondrial DNA variation in Northeast Atlantic and Mediterranean populations of Norway lobster, *Nephrops norvegicus*. *Molecular Ecology*, 13(6), 1377-1390.
- Storz, J. F. (2005). INVITED REVIEW: Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology*, 14(3), 671-688.
- Tang, C. Y., Tzeng, C. H., Chen, C. S., & Chiu, T. S. (2009). Microsatellite DNA markers for population-genetic studies of blue mackerel (*Scomber australasicus*) and cross-specific amplification in *S. japonicus. Molecular Ecology Resources*, 9(3), 824-827.



- Tautz, D. (1989). Hypervariabflity of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic* acids research, 17(16), 6463-6471.
- Tautz, D., & Renz, M. (1984). Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic* acids research, 12(10), 4127-4138.
- Taylor, N. G., McAllister, M. K., Lawson, G. L., Carruthers, T.,
 & Block, B. A. (2011). Atlantic bluefin tuna: a novel multistock spatial model for assessing population biomass. *PLoS One*, 6(12), e27693.
- Templeton, A. R. (2006). Population genetics and microevolutionary theory. John Wiley & Sons. Estados Unidos de América. 713pp.
- Tintore, J., La Violette, P. E., Blade, I., & Cruzado, A. (1988). A study of an intense density front in the eastern Alboran Sea: the Almeria-Oran front (No. NORDA-CONTRIB-321-047-87). Naval Ocean Research and Development Activity Stennisspace Center MS.
- Tzeng T. D. & Yeh S.Y. (2007). Morphological variation in the common mackerel (*Scomber japonicus*) off Taiwan. *Journal of The Fisheries Society of Taiwan*, 34(2): 199-207.
- Tzeng, C. H., Chen, C. S., Tang, P. C., & Chiu, T. S. (2009). Microsatellite and mitochondrial haplotype

 differentiation in blue mackerel (*Scomber australasicus*) from the western North Pacific. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, fsp120.

- Tzeng, T. D., Wang, D., Haung, H. L. & Yeh, S. Y. (2007). Genetic diversity and population expansion of the common mackerel (*Scomber japonicus*) off Taiwan. *Journal of The Fisheries Society of Taiwan*, 34, 281–289.
- Uriarte, A., Alvarez, P., Iversen, S. A., Molloy, J., Villamor, B., Martins, M. M., & Myklevoll, S. (2001). Spatial pattern of migration and recruitment of North East Atlantic Mackerel. ICES, 17, 1-40.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535-538.
- Velasco, E. M., Del Arbol, J., Baro, J., & Sobrino, I. (2011). Age and growth of the Spanish chub mackerel *Scomber colias* off southern Spain: a comparison between samples from the NE Atlantic and the SW Mediterranean. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 46(1), 27-34.
- Villamor, B., Abaunza, P., & Fariña, A. C. (2004). Growth variability of mackerel (*Scomber scombrus*) off north and northwest Spain and a comparative review of the



growth patterns in the northeast Atlantic. *Fisheries Research*, 69(1), 107-121.

- Waldman, J. R. (1999). The importance of comparative studies in stock analysis. *Fisheries Research*, 43(1), 237-246.
- Waples, R. S. (1998). Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *Journal of Heredity*, 89(5), 438-450.
- Waples, R. S., Punt, A. E., & Cope, J. M. (2008). Integrating genetic data into management of marine resources: how can we do it better? *Fish and Fisheries*, 9(4), 423-449.
- Ward, R. D. (2000). Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*, 420(1), 191-201.
- Ward, R. D., Woodwark, M., & Skibinski, D. O. F. (1994). A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *Journal of fish biology*, 44(2), 213-232.
- Wasko, A. P., Martins, C., Oliveira, C., & Foresti, F. (2003). Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales. *Hereditas*, 138(3), 161-165.
- Willette, D. A., Allendorf, F. W., Barber, P. H., Barshis, D. J., Carpenter, K. E., Crandall, E. D., Cresko W. A., Fernandez-Silva I., Matz M. V., Meyer E., Santos M. D.,

Seeb L. W. & Seeb, J. E. (2014). So, you want to use next-generation sequencing in marine systems? Insight from the Pan-Pacific Advanced Studies Institute. *Bulletin of Marine Science*, *90*(1), 79-122.

- Weber, J. L., & May, P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American journal of human* genetics, 44(3), 388.
- Weber, L. P., Higgins, P. S., Carlson, R. I., & Janz, D. M. (2003). Development and validation of methods for measuring multiple biochemical indices of condition in juvenile fishes. *Journal of Fish Biology*, 63(3), 637-658.
- Weir, B. S. (1996). Genetic Data Analysis II. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1358-1370.
- Werner, F. E., Page, F. H., Lynch, D. R., Loder, J. W., Lough, R. G., Perry, R. I., Greenberg, D.A. & Sinclair, M. M. (1993). Influences of mean advection and simple behavior on the distribution of cod and haddock early life stages on Georges Bank.*Fisheries Oceanography*, 2(2), 43-64.



- Wright, H. A. (1969). Effect of spring burning on tobosa grass. *Journal of Range Management*, 425-427.
- Yan, S., Catanese, G., Brown, C. L., Wang, M., Yang, C., & Yang, T. (2015). Phylogeographic study on the chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the Northwestern Pacific indicates the late Pleistocene population isolation. *Marine Ecology*.
- Yagishita, N., & Kobayashi, T. (2008). PERMANENT GENETIC RESOURCES: Isolation and characterization of nine microsatellite *loci* from the chub mackerel, *Scomber japonicus* (Perciformes, Scombridae). *Molecular ecology resources*, 8(2), 302-304.
- Zardoya, R., Castilho, R., Grande, C., Favre-Krey, L., Caetano, S., Marcato, S. Marcato, & Patarnello, T. (2004).
 Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*, 13(7), 1785-1798.
- Zarraonaindia, I., Pardo, M. A., Iriondo, M., Manzano, C., & Estonba, A. (2009). Microsatellite variability in European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) calls for further investigation of its genetic structure and

biogeography. ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil, 66(10), 2176-2182.

- Zeng, L., & Cheng, Q. (2012). Thirty novel microsatellite markers for the coastal pelagic fish, *Scomber japonicus* (*Scombridae*). *Journal Genetic*, *91*, e64-e68.
- Zeng, L., Cheng, Q., & Chen, X. (2012). Microsatellite analysis reveals the population structure and migration patterns of *Scomber japonicus* (*Scombridae*) with continuous distribution in the East and South China Seas. *Biochemical Systematics and Ecology*, 42, 83-93.
- Zhang, D. X., & Hewitt, G. M. (2003). Nuclear DNA analyses in genetic studies ofpopulations: practice, problems and prospects. *Molecular ecology*, 12(3), 563-584.





Anexo I. Frecuencias alélicas en Scomber colias







Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo









Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (*Scomber colias,* Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo

<i>puas</i> , sm ia		ran Canaria	enerife	ı Palma	lerteventura	ı Gomera	mería	lanova	elilla	g0	ndarroa	nes	o Miguel	iial	ar del Plata	
las de D. Co	AR	0,008 ^{ns} G1	0,017* Te	0,011 ^{ns} La	0,012 ^{ns} Fu	0,016* La	0,009 ^{ns} AI	0,016* Vi	0,020* M	0,007 ^{ns} Vi	0,005 ^{ns} O 1	0,015* Si	0,007 ^{ns} Sa	0,007 ^{ns} Fa	- M	
luesuread	FA	0,014 ^{ns}	0,018*	$0,012^{ns}$	0,014 ^{ns}	0,013 ^{ns}	0,012 ^{ns}	0,011 ^{ns}	0,013 ^{ns}	$0,002^{ns}$	0,012 ^{ns}	0,017 ^{ns}	0,003 ^{ns}	ı	0,588	
ICIONES II	SM	0,007*	0,010*	0,007*	0,006 ^{ns}	$0,007^{ns}$	$0,002^{ns}$	0,020*	0,019*	0,007*	$0,002^{ns}$	*600*0	т	0,508	0,512	
as poola).	PO	0,008*	0,013*	0,008*	0,008*	*600,0	$0,003^{ns}$	0,037*	0,034*	$0,004^{ns}$	$0,002^{ns}$	ı	0,417	0,550	0,543	
), enure 1 nferroni	ΡV	0,005 ^{ns}	0,007*	$0,004^{ns}$	0,006 ^{ns}	0,009 ^{ns}	-0,001 ^{ns}	0,029*	0,028*	0,005 ^{ns}	ı	0,380	0,386	0,533	0,516	
ip, 2007 te de Bo	ΙΛ	0,013*	0,017*	0,013*	0,012*	0,014*	0,005 ^{ns}	0,024*	0,021*	ı	0,416	0,390	0,418	0,523	0,528	
s y Estou 06 (ajus	ME	0,031*	0,037*	0,026*	0,027*	0,035*	0,026*	0,006 ^{ns}	ı	0,493	0,506	0,517	0,461	0,547	0,512	
p < 0,0	VIL	0,034*	0,039*	0,033*	0,027*	0,035*	0,030*	·	0,401	0,454	0,459	0,467	0,435	0,518	0,528	
(1907) cativo; *	AL	0,005 ^{ns}	0,007*	0,007*	$0,004^{ns}$	0,006 ^{ns}	·	0,467	0,506	0,402	0,347	0,368	0,391	0,550	0,522	ados
iorza y Euwarus os; ns: no signifi	60	0,006 ^{ns}	$0,005^{\mathrm{ns}}$	$0,006^{ns}$	$0,003^{ns}$		0,444	0,486	0,550	0,500	0,452	0,455	0,475	0,544	0,546	ores elev
	FU	0,002 ^{ns}	0,003 ^{ns}	$0,004^{ns}$	ı	0,374	0,406	0,422	0,495	0,464	0,419	0,409	0,428	0,548	0,538	
elos nul	PA	-0,001 "s	0,002 ^{ns}	T	0,346	0,387	0,419	0,444	0,484	0,488	0,410	0,439	0,428	0,548	0,522	ajos 🗖
a (UC, C ión de a	NI	0,001 ^{ns}	ı	0,326	0,326	0,367	0,421	0,453	0,520	0,494	0,422	0,446	0,443	0,551	0,548	'alores b
geneuc	GC		0,315	0,306	0,315	0,384	0,413	0,449	0,502	0,461	0,461	0,410	0,426	0,545	0,524	

Anexo II. Coeficientes de diferenciación sin corrección





173

poblaciones m	uestreada	is de S. c	solias; ns	: no sign	ificativo;	*: $p < 0$,	,006 (aju:	ste de Bc	nferroni).				
	GC	NI	ΡA	FU	60	ΡV	AL	PO	IV	SM	VIL	ME	МР	FA
Gran Canaria														
Tenerife	$0,001^{ns}$	ı.												
LaPalma	-0,001 ^{ns}	0,003 ^{ns}	•											
Fuerteventura	$0,002^{ns}$	0,003 ^{ns}	0,005 ^{ns}											
Gomera	0,006 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,006 ^{ns}	$0,002^{ns}$										
Ondarroa	$0,004^{\rm ns}$	0,007*	0,004 ^{ns}	0,006 ^{ns}	0,009 ^{ns}	•								
Almería	0,005 ^{ns}	0,008*	0,008*	0,004 ^{ns}	0,006 ^{ns}	-0,001 ^{ns}								
Sines	0,008*	0,013*	0,008*	0,008*	0,010*	0,002 ^{ns}	0,003 ^{ns}							
Vigo	0,012*	0,018*	0,013*	0,012*	0,015*	0,005 ^{ns}	0,006 ^{ns}	$0,004^{ns}$						
São Miguel	0,007*	0,010*	0,007*	0,006*	0,007 ^{ns}	$0,002^{ns}$	$0,002^{ns}$	*600,0	0,007*					
Vilanova	0,033*	0,039*	0,032*	0,027*	0,035*	0,030*	0,029*	0,037*	0,024*	0,019*				
Melilla	0,032*	0,039*	0,027*	0,028*	0,036*	0,030*	0,028*	0,036*	0,022*	0,020*	0,006 ^{ns}			
Mar del Plata	$0,008^{ns}$	0,017*	$0,011^{\rm ns}$	$0,012^{ns}$	0,016*	0,005 ^{ns}	$0,008^{ns}$	0,014*	0,007 ^{ns}	0,007 ^{ns}	0,015*	0,020*		
Faial	$0,015^{ns}$	0,020*	$0,013^{ns}$	$0,014^{ns}$	$0,011^{ns}$	$0,013^{ns}$	$0,012^{ns}$	0,017*	$0,004^{\rm ns}$	0,003 ^{ns}	$0,013^{ns}$	$0,016^{ns}$	_{su} 600'0	
Valores	bajos	r	Valores	elevado	s									

entre GENODIVE 6 ÷ da la debaio E L nátion diación **Tahla 22**. Coeficiente de diferen

> Diversidad Genética y Estructura Poblacional de Caballa (Scomber colias, Gmelin, 1789) en aguas del Atlántico y del Mediterráneo

Anexo III. Asignación bayesiana sin loci bajo selección

К	Reps	Media LnP(<i>K</i>)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	5	-21804.980	1.308	—	—	—
2		-21583.620	9.106	221.360	357.960	39.308
3	5	-21720.220	145.542	-136.600	342.680	2.354
4	5	-21514.140	46.9155	206.080	—	—

Tabla 23. Estimaciones del valor de K siguiendo el método Evanno *et al.* 2005 para las áreas establecidas sin los *loci* bajo selección Scja01 y Scja03.



Figura 26. Resultados obtenidos en STRUCTURE, graficados con Structure Harvester sin los *loci* Scja01 y Scja03. **A.** L(K) (media +- SD); **B**. Tasa de variación de la probabilidad de distribución (media); **C**. Valor absoluto de segundo orden de la probabilidad de distribución **D**. Valores modales de $\Delta K = m (|L"K|) / sd(L(K))$ para inferir *K*.





Figura 27. Grupos estimados por STRUCTURE, para K= 2 de las áreas analizadas (N = 576), sin los *loci* Scja01 y Scja03, para *Scomber colias*. CA: A. Canario; AZ: A. de Azores; NNP: C. Norte y Noroeste Peninsular; ME: C. Mediterránea.

muest	treadas c	le <i>S. coli</i>	ue une as, sin lo	os loci S	cja01 y ;	scja07.	, uevajo	ue la ul	agunaı, (nd ia inc	Uğlallıd	LINEEL	A, cuuc	a tas poutacione
GC	NI	ΡA	FU	60	PV	AL	PO	ΙΛ	SM	VIL	ME	SM	FA	
														Gran Canaria
,000														Tenerife
,000	0,003													La Palma
,003	0,002	0,004												Fuerteventura
,005	0,004	0,005	0,005											La Gomera
,007	0,006	0,007	0,007	0,008										Ondarroa
,006	0,005	0,006	0,007	0,007	0,000									Almería
),012	0,011	0,010	0,009	0,007	0,001	0,001								Sines
,013	0,013	0,013	0,013	0,012	0,005	0,003	0,003							Vigo
),006	0,009	0,005	0,008	0,009	0,003	0,002	0,006	0,005						San Miguel
,033	0,042	0,033	0,032	0,038	0,032	0,034	0,038	0,025	0,023					Vilanova
,025	0,034	0,022	0,028	0,032	0,030	0,026	0,032	0,021	0,018	0,007				Melilla
,008	0,014	0,012	0,011	0,011	0,007	0,006	0,015	0,010	0,006	0,019	0,021			Mar del Plata
600'(0,015	0,007	0,014	0,016	0,009	0,008	0,012	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000		Faial
	Valores	bajos		Valores 6	evados									

Anexo IV. Resultados sin los loci Scja01 y Scja07





Figura 28. Representación gráfica del análisis de coordenadas principales, sin los loci Scja01 y Scja07, de las 14 poblaciones de Scomber colias analizadas. A.: grupo de poblaciones del Mediterráneo (I). B.: grupo de poblaciones del Atlántico (II, III y IV).

К	Reps	Media LnP(K)	SD LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
1	3	-21001,966	0,230	—		_
2	3	-20899,533	22,801	102,433	111,133	4,874
3	3	-20685,966	13,027	213,566	149,266	11,458
4	3	-20621,666	3,550	64,300	758,366	213,617
5	3	-21315,733	501,523	-694,066	943,600	1,881
6	3	-21066,200	80,823	249,533	206,366	2,553
7	3	-21023,033	122,640	43,166	169,066	1,378
8	3	-21148,933	184,382	-125,900	283,233	1,536
9	3	-20991,600	40,905	157,333	354,233	8,659
10	3	-21188,500	150,865	-196,900	2,800	0,018
11	3	-21388,200	77,589	-199,700	257,466	3,318
12	3	-21330,433	120,262	57,766	334,100	2,778
13	3	-21606,766	187,873	-276,333	291,366	1,550
14	3	-22174,466	698,317	-567,700	196,233	0,281
15	3	-22545,933	104,008	-371,466		

Tabla 25. Estimaciones del valor de K siguiendo el método Evanno *et al.* 2005 para las áreas establecidas sin los *loci* Scja01 y Scja07, que presentan alelos nulos.





Figura 29. Resultados obtenidos en STRUCTURE, graficados con Structure Harvester sin los *loci* Scja01 y Scja07. **A.** L(*K*) (media +- SD); **B**. Tasa de variación de la probabilidad de distribución (media); **C**. Valor absoluto de segundo orden de la probabilidad de distribución **D**. Valores modales de $\Delta K = m (|L"K|) / sd(L(K))$ para inferir *K*.