

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Posgrados

**Ecología trófica, diversidad genética y contaminación por mercurio del
atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en la Reserva Marina de
Galápagos y el continente ecuatoriano.**

Laia Juliana Muñoz Abril

**Maria de Lourdes Torres, PhD.
Carlos A. Valle, PhD.
Codirectores de Trabajo de Titulación**

Trabajo de titulación de posgrado presentado como requisito para la obtención
del título de Ecóloga

Quito, septiembre de 2016

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE POSGRADOS**

HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**Ecología trófica, diversidad genética y contaminación por mercurio del
atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) en la Reserva Marina de
Galápagos y el continente ecuatoriano.**

Laia Juliana Muñoz Abril

Firmas

Carlos A. Valle, PhD.
Codirector del Trabajo de Titulación

Maria de Lourdes Torres, PhD.
Codirectora del Trabajo de Titulación

Margarita Brandt, PhD
Director del Programa de ecología

Stella de la Torre, PhD
Decana del Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Hugo Burgos, PhD
Decano del Colegio de Posgrados

Quito, septiembre de 2016

© Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Laia Juliana Muñoz Abril
Código de estudiante: 127660
C.I: AO380114

Quito, septiembre de 2016

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Carlos Valle PhD y María de Lourdes Torres PhD, por enseñarme a hacer ciencia y ser los directores de esta investigación.

A los miembros de mi comité y personal de la Universidad San Francisco que fueron de gran ayuda en esta investigación: Santiago Bucaram, Margarita Brandt, Jaime Chavez, Carlos Mena, Kelly Swing, Judith Denkinger, Venancio Arahana.

Al personal administrativo de la Universidad San Francisco de Quito.

A los profesores y estudiantes de maestría de la Universidad de Carolina del Norte en Wilmington: Steven Emslie PhD, Chad Lane PhD, Micah Marty, Amy Etherington, Kimberly Duernberger, Aaron, Ashley.

A los miembros del laboratorio de biotecnología vegetal: Nina, Alejandro, Juan, Marcela, Andrea, Milton, Sandy, Bernardo Gutiérrez y Alicia Bertolotti.

Al Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad San Francisco, al Galápagos Science Center, Centro de Ciencias Marinas de la Universidad de Carolina del Norte en Wilmington.

A la fundación Rufford, el programa de Collaboration grants de la USFQ por financiar esta investigación.

A mis asistentes de campo, Nicolás Acosta, Daniel Velarde, Francisco Rubianes.

¡A Rocio, Hugo, Nicolás, Cecilia, Luna, Zeus y toda mi familia por su apoyo incondicional!

RESUMEN

Uno de los principales objetivos del manejo de las pesquerías es garantizar la sostenibilidad de las poblaciones comerciales de peces. La reducción de estas poblaciones trae consigo diferenciación genética entre las mismas, cambios en el ecosistema y pone en riesgo la seguridad alimenticia. Dentro de las especies de atún más comercializadas está el atún aleta amarilla *Thunnus albacares*. Uno de los países en desarrollo que realiza prácticas pesqueras tanto para sustento como para exportación es Ecuador, siendo el octavo país del mundo con mayor captura de atún. El objetivo de esta investigación fue conocer la diversidad genética, ecología trófica y la contaminación por mercurio de las poblaciones del atún aleta amarilla, en base a una muestra de individuos capturados artesanalmente en la Reserva Marina de Galápagos y en el continente ecuatoriano durante los meses de julio y agosto de 2015 y enero y febrero de 2016. Las herramientas utilizadas para fueron 11 loci microsátélites, isótopos estables de Carbono y Nitrógeno y trazas de Mercurio. En la parte genética se analizó un total de 109 (76 y 33 respectivamente) individuos pescados por la flota atunera artesanal de la RMG y el continente ecuatoriano. Se encontró que existe una sola población de atún aleta amarilla entre la RMG y el continente ecuatoriano. La población presentó una pérdida de heterocigotos. Por otra parte, los isótopos estables de Carbono sugieren que los individuos juveniles y adultos tienen diferentes áreas de forrajeo. Las concentraciones de Nitrógeno sugieren una diferencia entre las cadenas tróficas de Galápagos y el continente ecuatoriano. Se encontró que el 8% de los atunes analizados en este estudio estaban por encima de los niveles tolerables de Mercurio establecidos por la FAO. Los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ayudar a iniciar un nuevo planteamiento de políticas de manejo de la pesca de atún aleta amarillo en el Ecuador.

Palabras clave: *Thunnus albacares*, diversidad genética, ecología trófica, pesquerías, isótopos estables.

ABSTRACT

One of the main objectives of fisheries management is to ensure the sustainability of commercial fish populations. The reduction of these populations causes genetic differentiation between them, changes in the ecosystem and threatens local food security. Yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, is among the most traded species of tuna. One of the developing countries that resorts to fishing practices for both sustenance and export is Ecuador, being the eighth country of the world with the largest tuna catch. The objective of this research was to determine the genetic diversity, trophic ecology and mercury contamination of stocks of yellowfin tuna, based on samples from individuals caught by artisan fisheries in the Galapagos Marine Reserve and the Ecuadorian mainland during the months of July and August 2015 and January and February 2016. Analyses with 11 microsatellite loci, stable isotopes of carbon and nitrogen, and trace amounts of mercury were conducted. The genetics of a total of 109 (76 and 33 respectively) individuals from the RMG and the Ecuadorian mainland were analysed. The results suggest there is one single stock of yellowfin tuna between RMG and the Ecuadorian mainland. The population showed a loss of heterozygotes. Moreover, carbon stable isotopes suggest that juvenile and adult individuals have different foraging areas. Nitrogen concentrations suggest a difference between food chains in Galapagos and Ecuadorian mainland. Mercury concentrations in 8% of the tuna analyzed in this study were above tolerable levels established by the FAO. The results obtained in this study may help initiate a new approach to management policies of yellowfin tuna fisheries in Ecuador.

Keywords: *Thunnus albacares*, genetic diversity, trophic ecology, fisheries, stable isotopes.

TABLA DE CONTENIDO

1. Introducción.....	12
1.1 Pesquerías.....	12
1.2 Sobreexplotación	13
1.3 Familia Scombridae	14
1.4 Atún aleta amarilla (Thunnus albacares).....	15
1.5 Pesquerías en Ecuador.....	16
1.6 Diversidad genética.....	17
1.7 Ecología trófica	20
1.8 Contaminación por mercurio	24
2. Justificación.....	28
3. Objetivos	30
3.1 Objetivo general	30
3.2 Objetivos Específicos.....	30
4. Área de estudio	31
5. Materiales y métodos	32
5.1 Colección de muestras.....	32
5.2 Análisis de diversidad genética	33
5.3 Análisis de ecología trófica	37
5.4 Concentraciones de mercurio y estándares de contaminación	40
6. Resultados	42

6.1 Tamaño de los atunes.....	42
6.2 Diversidad genética.....	42
6.3 Análisis de isótopos estables	45
7. Discusión.....	48
7.1 Tamaño de los atunes.....	48
7.2 Diversidad genética.....	49
7.3 Ecología trófica.	54
7.4 Concentraciones de mercurio y estándares de contaminación	57
8. Conclusiones.....	60
9. Recomendaciones.....	62
10. Referencias	63
11. Tablas.....	77
12. Figuras	82

Índice de tablas

Tabla 1. Primers seleccionados utilizados en la reacción PCR para la amplificación de 12 marcadores microsatélites de atún aleta amarilla <i>Thunnus albacares</i>	78
Tabla 2. Medidas de diversidad genética de 11 loci microsatélites evaluados en dos poblaciones de atún aleta amarilla (<i>Thunnus albacares</i>).....	79
Tabla 3. Índice de endogamia (Fis) de 11 loci microsatélites evaluado en individuos de atún aleta amarilla.....	80
Tabla 4. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de los individuos de atún aleta amarilla colectados en la RMG y el continente ecuatoriano.....	80
Tabla 5. Estadística descriptiva de 4 variables de respuesta medidas en individuos de atún aleta amarilla colectados en la RMG y el continente ecuatoriano.....	81
Tabla 6. Tabla comparativa de concentraciones por Mercurio en peso húmedo encontradas en atún aleta amarilla en diferentes regiones.....	82

Índice de figuras

Figura 1. Medida estándar (Fork length) tomada de cada individuo.....	83
Figura 2. Sitios de pesca de atún aleta amarilla (<i>Thunnus albacares</i>). En la imagen de la izquierda los puntos corresponden a la RMG y en la imagen de la derecha los puntos corresponden al continente ecuatoriano.....	84
Figura 3. Distribución de las medidas estándar (fork length) de los individuos de atún aleta amarilla muestreados en la RMG (parte superior) y el continente ecuatoriano (parte inferior). La línea negra indica la separación entre temporadas (línea negra a la derecha corresponde a la temporada seca, línea negra a la izquierda corresponde temporada húmeda).....	85
Figura 4. Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) usando 6 loci microsatélites en dos poblaciones de atún aleta amarilla.....	86
Figura 5. Delta K y media de probabilidad de logaritmo natural estimada por STRUCTURE en muestras de atún aleta amarilla usando valores de K=1 a K=5.....	87
Figura 6. Clúster consenso obtenido basado en datos multilocus de 6 loci microsatélites evaluados en dos poblaciones de atún aleta amarilla.	88
Figura 7. Diagrama de caja y bigote que representa la variación de medida estándar (fork length) de 347 individuos de atún aleta amarilla entre dos temporadas y dos regiones geográficas.....	89
Figura 8. Diagrama de caja y bigote que representa la variación de las concentraciones de nitrógeno de 347 individuos de atún aleta amarilla entre dos temporadas y dos regiones geográficas.....	90

- Figura 9.** Diagrama de caja y bigote que representa la variación de las concentraciones de carbono de 347 individuos de atún aleta amarilla entre dos temporadas y dos regiones geográficas.....91
- Figura 10.** Diagrama de caja y bigote que representa la variación de las concentraciones de mercurio de 347 individuos de atún aleta amarilla durante dos temporadas (izquierda) y dentro de dos localidades (derecha).....92
- Figura 11.** Relación entre las concentraciones de Nitrógeno y la longitud estándar medidas en individuos de atún aleta amarilla.....93
- Figura 12.** Relación entre las concentraciones de Carbono y la longitud estándar medidas en individuos de atún aleta amarilla.....94
- Figura 13.** Relación entre las concentraciones de Mercurio y la longitud estándar medidas en individuos de atún aleta amarilla.....95
- Figura 14.** Relación entre las concentraciones de Mercurio y las concentraciones de Carbono medidas en individuos de atún aleta amarilla.....96
- Figura 15.** Relación entre las concentraciones de Carbono y Nitrógeno durante la época caliente y la época fría entre la Reserva Marina de Galápagos y el continente ecuatoriano.....97

1. Introducción

1.1 Pesquerías

Las pesquerías juegan un importante papel en el mundo, cerca de 3 billones de personas tienen al pescado como su recurso proteico (FAO 2014), considerándolo saludable debido a sus proteínas, varias vitaminas, minerales, omega 3, entre otros (Mora et al. 2009, Bosch et al. 2016). Las demandas de pescado para satisfacer a la población son muy grandes y son asumidas principalmente por los países en desarrollo que deben exportar su pesca a países como Estados Unidos, China o Japón (Pauly and Zeller 2016). El número de personas que viven de extraer este recurso marino equivalen aproximadamente al 12% de la población mundial. Esto ocurre por el carácter auto-renovable que tienen las pesquerías, es decir que, si las pesquerías son gestionadas correctamente, la extracción de los recursos pesqueros puede ser prácticamente ilimitada y por lo que un gran número de personas pueden vivir de estas prácticas (Cadima 2003).

La unidad biológica en la que se basa el manejo de pesquerías es el stock (Hawkins et al. 2016). El concepto de stock ha sido bastante discutido. Para algunos autores, un stock se define por las características de una población a la que se la considera como una unidad homogénea, teniendo en cuenta múltiples aspectos de su historia de vida y biología (Begg et al. 1999). En otro contexto se entiende por stock a una unidad biológica de individuos de la misma especie que tienen una integridad temporal, espacial y realizan sus apareamientos al azar (Ward 2000). No obstante, la mayoría de planes de manejo se refieren a stock como una población que habita un área específica en un tiempo determinado (Lalkre et al. 2005, Ward 2000). Este concepto facilita las políticas de manejo,

sin embargo, generalmente no representa la estructura de una población (Carvalho and Hauser 1995). Existen diferentes métodos para evaluar un stock, algunos se basan en morfología, otros en áreas de desove, marcaje satelital, microquímica y genética. Aunque muchos de éstos pueden ser usados, las herramientas genéticas son más sensibles y fiables al momento de evaluar el estado de un stock (Kunal et al. 2013, Grewe et al. 2015).

1.2 Sobreexplotación

Capturar más peces de lo que la población puede reemplazar mediante reproducción natural se conoce como sobrepesca (Murawski 2000). Esta extracción excesiva, trae consigo grandes amenazas tanto para el ecosistema marino como para las personas que viven de su explotación. El ecosistema marino se va a ver afectado por futuras extinciones que provocarían reducción de la biodiversidad. La eliminación de especies de un ecosistema por la sobreexplotación puede ocasionar eutrofización, picos de enfermedades e invasión de especies introducidas. Así mismo el combustible usado por las embarcaciones pesqueras, los artes de pesca extraviados durante cada faena y los diferentes desechos productos de la pesca producen contaminación y destrucción física de los hábitats (Jackson et al. 2001). Por su parte, la economía mundial se afecta de gran manera, pues sin un océano saludable es imposible obtener recursos pesqueros (Anticamara et al 2010, Coll et al. 2016).

Uno de los principales objetivos del manejo de las pesquerías es garantizar la sostenibilidad de las poblaciones comerciales y evitar, por tanto, el agotamiento de las mismas. Sin embargo, el colapso de muchas poblaciones de especies comerciales en décadas pasadas y la poca recuperación de las especies sobre explotadas hacen que exista un cuestionamiento sobre, si las estrategias de

manejo son suficientes y efectivas para realizar un uso sostenible de los recursos marinos. Un requisito importante para el manejo sostenible es la unión entre los procesos biológicos de cada especie y la acción de manejo (Reiss et al. 2009).

1.3 Familia Scombridae

Una de las familias de especies comerciales mayormente explotadas en el mundo es la familia Scombridae (familia de los atunes) (Juan-Jordá et al. 2013). Los atunes son predadores tope, oportunistas, epipelágicos, distribuidos en aguas tropicales y sub tropicales en los océanos del mundo (Block et al. 2001). Son los únicos teleósteos que han desarrollado mecanismos fisiológicos de termorregulación para mantener su musculatura más caliente que el agua circundante, esta adaptación fisiológica les permite nadar en aguas con bajas temperaturas (Graham et al. 2007). Dentro de las especies de atún tropicales económicamente más importantes se encuentran la albacora (*Thunnus alalunga*), el atún aleta azul (*Thunnus thynnus*), el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), el atún patudo (*Thunnus obesus*) y el bonito (*Katsuwonus pelamis*). Las especies son explotadas industrial y artesanalmente. Las toneladas de atún capturadas en el mundo son controladas por: La Comisión Internacional de Conservación de Atunes Atlántica (ICCAT), Comisión de Atún del Océano Indico (IOTC), Comisión de Pesquerías del Océano Pacífico Central y Oeste (WCPFC) y la Comisión Interamericana de Atún Tropical (IATTC).

Debido a la pesquería, la biomasa de atunes de gran tamaño, es decir mayores a 175 cm fork length (midiendo desde la punta del hocico hasta el centro de la mitad de la cola) ha ido disminuyendo, al final de 1970 decreció en un 40%, y la actual biomasa de atunes mayores a 175 cm es menor del 17% (Sibert et al. 2006). El océano mayormente explotado por parte de flotas atuneras es el

Pacífico (Olson et al. 2010), de donde se extrae aproximadamente el 70% del total de atún que es capturado en el mundo (FAO 2014). En el último reporte de la FAO (2014), se registra un nuevo record en la captura de atún y especies similares, llegando a más de 7 millones de toneladas en el 2012. Sin embargo, según lo reportado por Zeller et al. (2015) las capturas oficiales registradas para el Pacífico están sub estimadas y el recurso puede estar disminuyendo más rápidamente.

1.4 Atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*)

Dentro de las especies de atún más comercializadas está el atún aleta amarilla *Thunnus albacares*. Esta especie se encuentra cerca de ser catalogada como una especie amenazada según la UICN (2011). Este pez ha sido reportado en profundidades desde 1 metro hasta 250 metros (Juan-Jordá et al. 2013), su talla de madurez sexual varía entre 85 y 108 centímetros (ISSF 2016), y la mayor longitud encontrada en esta especie es de 239 cm (FishBase 2016). Según Zhu et al. (2011), un atún aleta amarilla de 100 cm (FL) tiene aproximadamente 2 años de edad. El atún aleta amarilla generalmente se asocia con delfines y objetos flotantes (Dagorn et al. 2007, FishBase 2016). Esta especie ha mostrado una preferencia por zonas de agua templada cercanas a los 25 grados Celsius, por aguas de baja salinidad y ambientes con baja cantidad de oxígeno (Arrizabalaga et al. 2015). Muchos estudios realizados sugieren que el atún aleta amarilla tiene movimientos restringidos, es muy regional y tiene bajas tasas de dispersión (Silbert and Hampton 2003, Graham et al. 2010, Schaefer et al. 2007, Block et al. 2011, Schaefer et al. 2011, Schaefer et al. 2014, Hoolihan et al. 2014). El atún aleta amarilla suele ser muy abundante en regiones cercanas a islas e islotes en donde hay gran abundancia de alimento, así como también suele ser

muy abundante en las regiones este y oeste del Océano Pacífico, debido a la alta y estable productividad primaria que se da en esta región (Shaefer et al. 2007, Schaefer et al. 2011, Schaefer et al. 2014). En el último reporte de pesca de atún en el mundo realizado por The Pew Charitable Trusts (2016), se reportaron 1.37 millones de toneladas métricas de atún aleta amarilla pescadas en 2014.

1.5 Pesquerías en Ecuador

Uno de los países en desarrollo que realiza prácticas pesqueras tanto para sustento como para exportación es Ecuador (Galland et al. 2016). La pesquería realizada es tanto industrial como artesanal. La pesquería artesanal ha sido el sustento de muchas familias a lo largo del tiempo y actualmente es importante en la economía ecuatoriana porque representa la mayor cantidad de empleos de producción alimenticia del país (Martínez – Ortiz et al. 2015). De acuerdo con el censo de pescadores artesanales realizado por la Subsecretaría de Recursos Pesqueros (2016) en 6 provincias costeras (Esmeraldas, Manabí, Santa Elena, Guayas, El Oro y los Ríos) hay 47 975 embarcaciones pesqueras operando en Ecuador, de las cuales 30 810 corresponden a embarcaciones dedicadas a la pesca artesanal y existe un total de 59 616 personas que realizan actividades relacionadas a este tipo de pesca. Galápagos por su parte cuenta con 308 pescadores artesanales activos, un total de 94 embarcaciones de pesca activas, dedicadas a la pesca de altura que captura principalmente atún aleta amarilla (73.8%) (DPNG 2015).

Según lo reportado por Martínez – Ortiz et al. (2015), se estima que el mercado de productos provenientes de la pesca artesanal genera 200 millones de dólares por año en Ecuador. Las embarcaciones artesanales usadas para capturar

especies pelágicas son fibras de vidrio que varían entre 10 y 12 metros de longitud, que operan aproximadamente de 2 a 4 días seguidos, a una distancia de 40 a 200 millas náuticas de las costas de Ecuador y Galápagos. La pesca realizada por estas embarcaciones no es documentada (Martínez – Ortiz et al. 2015). Los artes de pesca artesanal utilizados son el palangre que es una línea con un número de anzuelos que puede variar y el trasmallo que es una red de aproximadamente 1500 metros de largo por 8 metros de ancho. El arte de pesca varía dependiendo de las especies que se quiere capturar. En la región continental están permitidos todos los artes de pesca, sin embargo, en la Reserva Marina de Galápagos (RMG) solo se permite pescar con anzuelo (DPNG 2015).

En el último reporte de pesca de atún en el mundo realizado por The Pew Charitable Trusts (2016), Ecuador es el octavo país con mayor número de toneladas métricas de atún pescadas. Este porcentaje corresponde solamente a redes de cerco industriales ya que la pesca artesanal no es considerada como representativa (Martínez – Ortiz et al. 2015). El Instituto Nacional de Pesca Ecuatoriana, reportó un total de 18 362 toneladas métricas de atún aleta amarilla capturado durante el año 2015 entre la costa ecuatoriana y la RMG, siendo la segunda especie de atún más capturada y con un incremento de más de 3 000 toneladas entre 2014 y 2015.

1.6 Diversidad genética

Existen varias escalas para medir la biodiversidad biológica de un área geográfica. Una de estas escalas es la diversidad genética, que se refiere a la variedad alélica y genotípica dentro de una población y entre poblaciones de una especie. La diversidad genética determina el potencial ecológico y evolutivo de

una especie (Féral 2002). La variabilidad genética se puede ver de dos maneras, como diversidad alélica y como heterocigosidad (Ferguson et al. 1995). Sobre esta variabilidad actúan fuerzas selectivas como la migración, deriva genética y selección (Hughes et al. 2008).

Los marcadores moleculares son una gran herramienta para analizar la variabilidad genética. Son fragmentos de ADN, genes o proteínas que permiten distinguir individuos, poblaciones o especies (DeSalle and Amato 2004). Muchos de estos marcadores se fundamentan en la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que es el proceso mediante el cual es posible sintetizar miles de copias de un segmento de ADN utilizando secuencias específicas de ADN (primers) complementarias a las secuencias de ADN del marcador (Féral 2002). Como ejemplos de marcadores moleculares están: los RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Sequenced Characterized Amplified Region), RAPD Random (Amplified Polymorphic ADN), los minisatélites, y microsatélites. Uno de los más usados actualmente son los microsatélites, que son repeticiones en tándem de 2 a 10 pares de bases, codominantes (detectan tanto homocigotos como heterocigotos), altamente variables y cuya variación puede ser analizada como polimorfismos (Féral 2002).

Los microsatélites han sido utilizados para determinar la estructura de una población o stock de peces, entendiendo como estructura, diferencias en las frecuencias alélicas entre las poblaciones de una misma especie (Hellberg et al. 2002). Para peces ubicados en un área geográfica determinada pueden existir tres tipos de estructuras poblacionales posibles: poblaciones distintas, poblaciones en continuo cambio y poblaciones no diferenciadas. Las poblaciones distintas presentan una pequeña migración entre poblaciones

locales generando una divergencia genética entre áreas geográficas. Las poblaciones en continuo cambio presentan una variación genética continua en el espacio mediada por migración entre poblaciones locales cercanas. Las poblaciones no diferenciadas se refieren a un grupo homogéneo que ocupa una gran región geográfica. El intercambio genético entre los individuos de diferentes áreas geográficas, es usualmente medido por el número de migrantes que se mueven entre poblaciones y entre la población reproductora de cada generación. El flujo genético es estimado de la proporción de la variación genética que se estructura geográficamente (F_{st}) generando diferenciación. Por tanto, a mayor número de migrantes menor será la variación genética (Lalkre et al. 2005, Palumbi 2003).

La explotación de un stock en determinada área geográfica puede traer cambios en las frecuencias alélicas, que podrían generar dos o más poblaciones genéticamente diferentes a futuro. Evaluar el estado de un stock que es explotado brinda información real para ser implementada en planes de manejo evitando así que las especies se extingan (Begg et al. 1999, Kunal et al. 2013).

La población de atún aleta amarilla ha sido evaluada entre y dentro de los océanos con el objetivo de determinar si existe una o varias poblaciones de la especie. Dentro de los estudios que se han realizado, Ely et al. (2005) encontraron pequeños niveles de diferenciación genética entre los océanos Atlántico y Pacífico; Wu et al. (2010) no encontraron diferenciación genética entre las regiones occidental y central del Pacífico; Appleyard et al. (2001) usando microsatélites encontraron una heterogeneidad limitada en el océano Pacífico occidental; Aguila et al. (2015) encontraron que existen diferencias entre las poblaciones de atún aleta amarilla de Filipinas y la región occidental y central del

océano Pacífico; Grewe et al. (2015) encontraron diferencias discretas entre poblaciones del océano Pacífico. Estos estudios sugieren más de una población de atún aleta amarilla hipótesis de población panmíctica de atún aleta amarilla. Sin embargo, el último reporte presentado por la Comisión Inter-Americana de Atún Tropical (CIAT) en el año 2015, realiza sus estimaciones todavía asumiendo una sola población dentro del océano Pacífico Este. Estas presunciones incorrectas pueden traer consecuencias en el manejo y la conservación de las poblaciones de atún aleta amarilla, convirtiéndose esto en una posible amenaza. Por lo que conocer el estado de la población de atún de aleta amarilla de un país cuya economía depende en gran parte de las pesquerías, es de gran utilidad para poder conservar este servicio ecosistémico.

1.7 Ecología trófica

La caracterización espacial y temporal de los componentes de las cadenas tróficas es importante para el manejo, conservación de los recursos marinos, y para entender cómo se encuentra la salud y productividad de las poblaciones, comunidades y ecosistemas (Das et al. 2000, Pethybridge et al. 2015).

La distribución de la presa refleja cual es la distribución de un depredador y define algunos hábitats en donde las presas y el depredador han de concurrir. A su vez la abundancia de la presa está relacionada con la abundancia de un depredador (MacLeod et al. 2003). A lo largo del tiempo se han desarrollado métodos para el estudio de la dieta de los animales. Estas herramientas han permitido a los ecólogos conocer de qué se alimentan muchos organismos. Sin embargo, aún existen ciertos vacíos de información ya que los métodos más tradicionales no han permitido el estudio de depredadores rápidos o depredadores que viven en ecosistemas en donde no es fácil documentar estos

comportamientos. Los métodos tradicionales más utilizados para determinar la dieta de los organismos han sido el análisis de contenidos estomacales y el análisis de heces fecales de los diferentes integrantes de las redes tróficas. Por su parte el análisis de contenidos estomacales de un individuo solo refleja los alimentos que ha consumido en las últimas horas y hay una gran variedad de especies generalistas cuya dieta no podría ser caracterizada con esta herramienta. El análisis de heces fecales presenta vacíos de información pues no todas las presas son igual de digeribles, y no todos los organismos son fáciles de seguir o encontrar para coleccionar muestras de heces (Hooker et al. 2001).

Actualmente mediante firmas de isótopos estables es posible conocer la ecología trófica de los organismos de una manera más completa (Kelly 2000), ya que los isótopos se encuentran de forma natural en todos los ecosistemas y en los tejidos de todos los organismos (Dehn et al. 2006). El análisis isotópico funciona como “memoria” de moléculas bióticas y abióticas, lo que ha permitido reconstruir procesos ecológicos desde décadas atrás (West et al. 2006). Mientras un análisis de contenido estomacal o de heces fecales podrían mostrar el alimento de un animal durante las últimas horas, el análisis de isótopos estables permite conocer el nivel trófico de un animal y el área de productividad en donde se alimenta. De existir muestras de las posibles presas que consume también es posible determinar específicamente el tipo de dieta mediante comparación de los valores isotópicos entre depredador y presa. Los isótopos estables en un organismo son útiles para determinar patrones de migración (Guerrero and Berlanga 2010).

Los isótopos estables más utilizados al estudiar cadenas tróficas e interacciones de depredador presa son los isótopos de Carbono y Nitrógeno (Dehn et al. 2006). Cada tejido discrimina los isótopos de carbono y nitrógeno de manera diferente

de acuerdo a la tasa de remplazo y la tasa metabólica, por ejemplo, las tasas de remplazo de la piel son más rápidas que las de los dientes (Walker and Macko 1999, Davenport and Bax 2002, Borrell et al. 2012). El nitrógeno es un recurso en la dieta obtenido de proteínas, en el océano abierto se incorpora al fitoplancton mediante la desnitrificación y la fijación de nitrato, amonio y N_2 (Graham et al. 2010). La diferencia en la cantidad de nitrógeno permite reconocer los diferentes niveles de la red trófica. El incremento generalmente es entre 2 ‰ y 5‰ por cada nivel trófico (Fry and Sheer 1989), sin embargo, la cantidad de nitrógeno encontrada en los diferentes tejidos también está relacionada con la región geográfica en donde habita (Graham et al. 2010). Los depredadores pelágicos están influenciados por cambios en el micronecton de sus recursos alimenticios, los cuales son influenciados por el cambio climático. Así mismo el micronecton es influenciado por sus predadores dentro de los que se encuentran los atunes, los cuales son impactados por las pesquerías (Young et al. 20115).

Por otra parte, la composición isotópica de carbono en los tejidos de un animal se debe al consumo de proteínas, lípidos y carbohidratos en su dieta. El carbono tiene un incremento de aproximadamente 1 ‰ por cada nivel trófico y se usa para determinar el área de productividad en donde se alimenta un individuo, si se encuentra cerca o lejos de la costa o si su zona de forrajeo es béntica o pelágica (Walker et al. 1999). Los valores altos de carbono están asociados a zonas de alta productividad primaria mientras los valores bajos a zonas de lenta productividad (Davenport and Bax 2002, Cherel and Hobson 2007). En las diferentes regiones del ecosistema marino el hábitat de pastos marinos contiene la mayor parte de carbono mientras que el océano abierto posee la menor parte (Graham et al. 2010).

Los isótopos estables son medidos en proporciones del isótopo más pesado en relación al más liviano, los resultados se expresan en partes por mil y la fórmula que se utiliza para estimar las proporciones es (Fry and Sherr 1989, Das et al. 2000):

$$\delta = (R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}} - 1) * 1000$$

En donde R_{muestra} es la proporción entre el isótopo más pesado sobre el más liviano (e.g., $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) y $R_{\text{estándar}}$ es una medida establecida internacionalmente (Das et al. 2003). Sin embargo, la composición isotópica de un animal no es exactamente igual a la composición de lo que ha ingerido ya que existe disociación de estas moléculas (Lesage et al. 2010). A esta disociación se conoce como fraccionamiento isotópico. El fraccionamiento isotópico se describe como: $\Delta^b \text{XA-B} = \delta^b \text{XA} - \delta^b \text{XB}$. Esta ecuación denota la diferencia isotópica entre el consumidor (A) y su dieta (B). Ya que el consumidor está enriquecido mucho más con respecto a su dieta, los valores de $\Delta^b \text{XA-B}$ son positivos (Post 2002). Según Newsome et al. (2010) para interpretar las diferencias isotópicas entre los diferentes tejidos de un animal es necesario tener en cuenta tres fuentes de variación isotópica: (1) la composición isotópica de las entradas alimenticias de cada organismo, (2) comprender los fraccionamientos isotópicos que ocurren entre las fuentes de alimentación y los tejidos de los animales y (3) la comprensión del tiempo necesario para que un valor isotópico se refleje en un tejido.

Las medidas isotópicas en depredadores tope que se encuentran distribuidos en la región tropical proveen indicadores de la salud del ecosistema y de la energía que se está transfiriendo a lo largo de la cadena trófica (Pethybridge et al. 2015). Determinar los cambios en la estructura trófica es una herramienta que permite

conocer los impactos de prácticas como la pesquería (Essington et al. 2002, Richert et al. 2015), debido a la eliminación de individuos de los diferentes estados reproductivos de las poblaciones comerciales (Enríquez- Andrade and Vaca- Rodríguez 2004, Popp et al. 2007).

1.8 Contaminación por mercurio

La carne de pescado es consumida por una gran parte de la población mundial y es considerada una fuente de nutrición que trae beneficios para la salud. Dentro de los que se encuentran beneficios cardiovasculares (Gribble et al. 2016). Sin embargo, esta carne también puede traer riesgos para las personas, pues en los peces y la comida de mar en general se encuentran grandes acumulaciones de metales pesados entre estos el Mercurio (Crump and Trudeau 2009, Bosch et al. 2015, Bosch et al. 2016).

El Mercurio (Hg) es un metal líquido a temperatura ambiente y puede presentarse en diferentes formas químicas y compuestos (Bosch et al. 2015). Dentro de los eventos naturales que aportan con concentraciones de Mercurio al ambiente se encuentran la quema de bosques, las erupciones volcánicas, desgasificación de los suelos, entre otras. Sin embargo, dos tercios del Mercurio presente en la atmósfera y ambientes acuáticos es de origen antropogénico (Morel et al. 1998, Kojadinovic et al. 2006). Dentro de las industrias que utilizan Mercurio se encuentran la manufactura del plástico, soda cáustica, cloro entre otros. Así mismo la quema de combustibles fósiles, fundición de metales, incineración de basura y fungicidas a base Mercurio también son importantes en el incremento de Mercurio en el medio ambiente (Crump and Trudeau 2009, Guynup and Safina 2012).

El Mercurio se encuentra en el ambiente de forma orgánica e inorgánica (Guynup and Safina 2012). La forma orgánica son el Metilmercurio (MeHg) y Etil Mercurio y son consideradas tóxicas para los organismos ya que son más estables y se pueden acumular de manera más fácil en los tejidos de los peces. El Mercurio inorgánico no es considerado tóxico, debido a que se acumula en los tejidos en menores cantidades y además tiene una alta tasa de excreción (Morel et al. 1998, Guynup and Safina 2012). El Mercurio es soluble en cuerpos de agua y es un elemento volátil (Perugini et al. 2009, Jinadasa et al. 2014) por lo que, las bacterias en ecosistemas acuáticos se encargan de metilar el Mercurio y convertirlo en formas tóxicas como Metilmercurio (Morel et al. 1998). El Metilmercurio es la forma química más absorbida dentro de la cadena trófica (Bosch et al. 2015, Beldowka and Falkowska 2016); este compuesto se une a proteínas y aminoácidos de los tejidos musculares y no son removidos por ningún tipo de cocción o proceso de limpieza.

El Mercurio tiene las propiedades de bioacumulación y biomagnificación. Se acumula en los tejidos de los organismos y lo hace de forma progresiva en los diferentes niveles tróficos, esto se relaciona con el coeficiente de concentración entre los tejidos de un predador en comparación con los de su presa (PNUMA 2005). En el ecosistema marino el Mercurio se distribuye a lo largo de la cadena trófica de la siguiente manera: ecosistema acuoso 5%, en fitoplancton 15%, zooplancton 30% y más del 90% en peces (Watras and Bloom 1992). Debido a la propiedad de transferencia trófica del Mercurio o biomagnificación en cada uno de los niveles tróficos, los organismos que están en altas posiciones tróficas como los predadores tope son susceptibles de contener altas concentraciones de Mercurio (Kojadinovic et al. 2006, Chen et al. 2008, Onsanit et al. 2012,

Beldowka and Falkowska 2016). El contenido de Mercurio también puede variar dependiendo de factores como la especie del pez, el tamaño, la posición trófica, el hábitat y la localidad en donde se encuentra (Ordiano-Flores et al. 2011).

La presencia de metales en ecosistemas acuáticos trae consigo problemas tanto para los organismos que se encuentran allí como para los humanos que los consumen (Kojadinovic et al. 2006, Araújo and Cedeño-Macias 2016). Los peces pueden tener efectos adversos en su crecimiento y sobrevivencia cuando se exponen a altos niveles de mercurio. Los peces piscívoros tienen un riesgo elevado por estar expuestos a gran toxicidad. Los efectos fisiológicos que puede causar el metilmercurio son, alteración en ciclo reproductivo, problemas comportamentales, inmunológicos y neuroquímicos, daños en los neurotransmisores entre otros (Scheuhammer et al. 2007, Crump and Trudeau 2009). Las personas que consumen pescado extraído del mar, pueden tener efectos neurológicos y de desarrollo en el caso de los fetos. Cerca del 95% del metilmercurio ingerido es absorbido por el tracto intestinal después del consumo y es distribuido a todos los tejidos. El metilmercurio tiene la capacidad de atravesar de manera rápida la placenta y la barrera hematoencefálica, y a su vez es un compuesto neurotóxico que puede afectar el cerebro (PNUMA 2005, Mergler et al. 2007, Crump and Trudeau 2009, Guynup and Safina 2012, Tchounwou et al. 2012, Bosch et al. 2015, Gribble et al. 2016). Sur América, África y algunas partes de Asia son responsables de una proporción significativa de emisiones de mercurio de uso intencional y desperdicio de productos. Una de las primeras enfermedades ocasionadas por la intoxicación con mercurio fue la enfermedad de Minamata, en la ciudad de Minamata, Japón. Fue consecuencia de la descarga de contaminantes provenientes de una planta industrial al agua.

Durante el inicio de la enfermedad la gente empezó a observar los peces flotando, las aves caerse mientras volaban y la muerte de muchos gatos, posteriormente se presentaron casos clínicos y después de los respectivos análisis determinaron que esta enfermedad con consecuencias sensoriales, ataxia, constricción visual, problemas auditiva entre otras (Harada 1995).

Algunas organizaciones alrededor del mundo, como la World Health Organization (WHO), Food and Agriculture Organization (FAO), Environmental Protection Agency (EPA), Food and Drugs Administration (FDA) entre otras, han determinado niveles de mercurio para el consumo humano. Basados en esta información, muchos países establecen niveles de consumo para resguardar la salud de las personas.

Las regulaciones para la protección de la salud humana están en un rango de 0.3 a 1 mg/Kg (ppm) medidas en peso húmedo, siendo el músculo de los peces los tejidos con la mayor concentración de metilmercurio (McKinney et al. 2016).

2. Justificación

Los cambios en la diversidad de especies marinas provocados por la explotación, la contaminación y destrucción de hábitats alteran la dinámica de los ecosistemas marinos, tienen consecuencias en la salud alimentaria de las comunidades humanas y afectan la economía de las regiones que viven de la explotación de estos recursos (Anticamara et al. 2005, Pauly et al. 2003, Worm et al. 2006). Las pesquerías contribuyen de gran manera a los cambios en el ecosistema marino. Según el último reporte de la FAO (2014), el 28,8% de las poblaciones de especies comerciales están sobre explotadas y el 61,3% están plenamente explotadas. Worm et al. (2006) sugieren que aproximadamente en el año 2048 las especies comerciales pueden llegar a colapsar como resultado de la sobre explotación. A Pesar que estas cifras son de por si alarmantes, Pauly y Zeller (2016) sugieren que están subestimadas, lo que indica que las poblaciones pueden estar más afectadas de lo que se cree.

Las pesquerías funcionan como agentes de cambio en el ecosistema, pues ofrecen la oportunidad de entender cómo interactúan los procesos biológicos y ecológicos. Para conocer cuanto es posible pescar sin afectar las poblaciones de peces comerciales, es necesario tener datos reales y actuales de las poblaciones más sensibles (Essington et al. 2002). Según lo encontrado por Juan-Jordá et al. (2015), las especies de gran tamaño son más sensibles a la extinción que las especies de menor tamaño. Por lo que es necesario unir esfuerzos ecológicos, económicos, políticos y sociales para poder llegar a realizar un correcto manejo de las pesquerías (Anticamara et al. 2010).

Los atunes son una de las especies pelágicas mayormente explotadas a nivel mundial y existen evidencias que la actual captura excesiva de atún amenaza la

industria atunera en el mundo (Kumar and Kocour 2015). Una de las especies de atún mayormente explotada es el atún aleta amarilla. Según lo sugerido por La Comisión Inter Americana de Atún Tropical (2016), el stock de atún aleta amarilla está cerca de superar el máximo sostenible en la región del Pacífico. Este estudio contribuye al generar información del estado actual de la población o poblaciones de atún aleta amarilla que se encuentran entre la RMG y el continente ecuatoriano. De esta manera, aporta conocimientos biológicos y ecológicos esenciales que de ser utilizados pueden contribuir a una correcta explotación de este servicio ecosistémico.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Conocer la diversidad genética, ecología trófica y la contaminación por mercurio de las poblaciones del atún aleta amarilla, en base a una muestra de individuos capturados artesanalmente en la Reserva Marina de Galápagos y en el continente ecuatoriano durante las épocas fría y caliente.

3.2 Objetivos Específicos

(1) Conocer la diversidad genética de los individuos capturados artesanalmente en la Reserva Marina de Galápagos y en el continente ecuatoriano en la época fría (julio - agosto 2015).

(2) Establecer las posibles variaciones en la posición trófica como consecuencia de fluctuaciones en la dieta resultante de los cambios oceanográficos temporales y espaciales en las áreas de alimentación.

(3) Determinar los niveles de contaminación por mercurio en los atunes capturados artesanalmente en la Reserva Marina de Galápagos y frente a las costas ecuatorianas.

4. Área de estudio

Ecuador cuenta con 4525 km de costa entre el Pacífico Este y las Islas Galápagos, y está localizado en el océano más dinámico del planeta (Martínez – Ortiz et al. 2015). Esta región del Pacífico Este está caracterizada por dos épocas claramente diferenciadas, la época caliente (enero – abril) y la época fría (julio-octubre).

Durante la época caliente el agua tiene temperaturas entre 25°C y 27°C y una baja salinidad. También está caracterizada por bajas concentraciones de nutrientes. La corriente El Niño es la responsable de la presencia de aguas calientes alrededor del Ecuador. La época fría, está determinada por el frente ecuatorial, que es la característica más importante de esta época (Okuda et al. 1983). El Frente Ecuatorial es la zona transicional de encuentro entre aguas superficiales y las aguas de la Corriente Costera Peruana (Corriente de Humbolt) y se extiende desde el Sur del Ecuador hacia las Islas Galápagos (Okuda et al. 1983). La época fría es caracterizada por aguas frías entre 21°C y 23°C. A diferencia de la época caliente en la época fría la salinidad y la concentración de nutrientes aumentan.

La RMG es uno de los archipiélagos más diversos del mundo (Schaefer et al. 2008). Está influenciado por la corriente fría peruana (Humbolt) desde el sur del archipiélago y por la corriente caliente Ecuatorial desde el norte del archipiélago. Debido a estas características oceanográficas, los afloramientos de fitoplancton son abundantes durante la época fría. Esto confiere al archipiélago las características de ser un ecosistema favorable para que habiten más de 2900 especies de peces, invertebrados acuáticos y mamíferos marinos (Schiller et al. 2014).

5. Materiales y métodos

5.1 Colección de muestras

La colección de muestras se realizó en la RMG y en el continente ecuatoriano. En la RMG las muestras fueron obtenidas en dos puertos pesqueros, el puerto de la Isla San Cristóbal y el puerto de la Isla Santa Cruz. En el continente ecuatoriano las muestras fueron tomadas en el puerto de Santa Rosa en la provincia de Santa Elena. La colecta de muestras se realizó durante la época fría de 2015 (julio y agosto) y la época caliente de 2016 (enero y febrero). Se obtuvo un total de 104 muestras en Galápagos y 46 muestras en el continente durante la época fría (2015) y un total de 139 en Galápagos y 58 muestras en el continente durante la época caliente (2016).

En la mayoría de los casos, el tejido seleccionado en cada individuo fue músculo rojo. Sin embargo, debido al pequeño tamaño de los animales en la región continental, los pescadores no permitieron extraer músculo del individuo por lo que en estos casos se colectó aletas caudales. De cada individuo se tomaron dos muestras de aproximadamente 2 gramos cada una, una muestra se almacenó en hielo a -20°C y la otra muestra se almacenó en etanol al 99%. Todas las muestras se refrigeraron a -20°C en tubos Eppendorf de 1.5 ml de volumen.

De cada individuo muestreado se midió la longitud estándar, que va desde la punta del hocico de pez hasta la mitad de la cola (Figura 1). De 213 individuos se midió la longitud estándar. De 134 no se midió la longitud estándar, pues la cabeza de estos individuos fue removida por los pescadores antes de llegar al puerto de pesca, por lo que su tamaño estándar se predijo mediante una

regresión lineal aplicada a 65 individuos en los que se midió tanto la longitud estándar como la longitud sin cabeza.

Solo fueron medidos y muestreados los individuos de los cuales se tuvo una coordenada aproximada del área de captura. La información georreferenciada fue proporcionada por los pescadores de los diferentes puertos. Así mismo solo se colectaron atunes provenientes de la pesca artesanal, cuya faena se realiza en fibras de vidrio de 10 a 12 metros de largo y que pescan dentro de un área de 200 millas náuticas del puerto pesquero, esto para asegurar que los atunes provenían de dos lugares diferentes (dentro de aguas ecuatorianas continentales y dentro de aguas ecuatorianas insulares), pues la mayoría de barcos atuneros que llegan a la región continental traen atunes capturados a las afueras de la RMG. Dentro de la RMG se capturaron atunes provenientes de 17 puntos distintos y dentro de la costa ecuatoriana dentro de 5 puntos distintos (Figura 2). Los artes de pesca artesanales utilizados para la captura de los atunes fueron palangre o línea de anzuelos en la RMG y trasmallo o línea de anzuelos en el continente.

5.2 Análisis de diversidad genética

Extracción y cuantificación de ADN

La extracción de ADN a partir del músculo y aleta de atún aleta amarilla se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad San Francisco de Quito. En primer lugar, se realizó extracción de ADN, utilizando el protocolo del kit de extracción QUIAGEN para 200 muestras, sin ninguna modificación. Para cuantificar y conocer la calidad del ADN extraído mediante espectrofotometría se utilizó el NANODROP 2000 (ThermoScientific) y para determinar que el ADN no

se encontrara fragmentado se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con SYBRSAFE (Invitrogen). Dependiendo de los resultados obtenidos en la cuantificación el ADN se diluyó a una concentración de 20 ng/μl para su posterior uso en las reacciones de amplificación por PCR.

Amplificación por PCR

La selección de primers se realizó en base a publicaciones científicas de atún aleta amarilla. Fueron seleccionados 12 loci microsatélites específicos para esta especie. 11 de los primers utilizados para amplificar estos loci fueron diseñados por Antoni et al. (2014) y el restante por Appleyard et al. (2001) (Tabla 1). Los primers forward fueron marcados con fluoróforos azules y verdes (6-FAM Y HEX respectivamente) en la cadena 5'. Los fluoróforos emiten diferentes señales que son observadas como colores y son detectadas a diferente longitud de onda, por lo que es posible marcar un primer con diferentes fluoróforos y de esta manera poder leer varios loci en una sola reacción (multiplex) (Vázquez and Morales 2013). Esto reduce el tiempo y el costo en las amplificaciones y secuenciaciones posteriores. Utilizando el programa Primer 3.0, en base a las temperaturas de annealing y al tamaño en pares de base se realizaron 4 multiplex. Cada reacción multiplex estaba conformado por 3 pares de primers de dos diferentes colores, los primers que presentaban el mismo color generaban amplicones con diferentes tamaños esperados.

Las reacciones PCR y condiciones de ciclado utilizadas fueron descritas por Appleyard et al. (2001) con algunas modificaciones. Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 20 μL y contenían 20 ng de ADN, Buffer de PCR 1 X, MgCl₂ 1.5 mM, 0.8 μM de cada primer, 100 μM de dNTPs y 0.1 U de Taq polimerasa platinum (INVITROGEN). El programa de ciclado consistió en

una desnaturalización inicial a 93°C por 10 minutos seguida de 55°C por 15 seg, 34 ciclos de temperatura de annealing (promedio para cada multiplex) por 2 min, 93°C por 15 seg. El programa terminó con una extensión de 72°C por 10 min.

Para comprobar la amplificación exitosa de los primers utilizados se realizó una electroforesis en geles de agarosa al 2%, que corrió durante 45 minutos a 80 voltios. Se comprobó además que los tamaños de pares de base visualizados en los geles de agarosa estuvieran dentro del rango del tamaño esperado descrito por los respectivos autores. Los productos PCR obtenidos fueron enviados al Smithsonian, para su secuenciación. Esta secuenciación se llevó a cabo en un secuenciador automático (ABI PRISM 310; Applied Biosystems).

Análisis de datos

Las secuencias de ADN obtenidas fueron analizadas en el programa GENEMAPPER v. 3.0. de Applied Biosystems by Life Technologies. Este análisis permitió conocer el tamaño y la cantidad de fragmentos de ADN amplificados. Utilizando como referencia los tamaños esperados reportados por los autores (Appleyard et al. 2001, Antoni et al. 2014) que diseñaron los primers, se seleccionaron los picos que estuvieran dentro de este rango.

La matriz codominante resultante que contenía los alelos (tamaño en pares de bases) encontrados en cada locus se realizó en Office Excel v. 2016. La diversidad genética en los loci microsatélites fue cuantificada utilizando la riqueza alélica; mediante el cálculo del número de alelos por locus (N) y número de alelos promedio por locus (N_a), utilizando el programa ARLEQUIN v.3.5 (Excoffier and Lischer 2010). Con el mismo software se calculó la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) y rango del tamaño de los

alelos, por cada locus. Para calcular si existieron diferencias significativas entre la H_o y la H_e se utilizó la prueba estadística t de student utilizando el programa SPSS v. 22.

ARLEQUIN v. 3.5 fue usado también para conocer las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) y para el cálculo de distancias genéticas (distancias de Wright F_{st}) e índice de endogamia F_{is} . Para entender la variación total entre las poblaciones y entre los individuos se realizó un AMOVA utilizando el mismo programa. La significancia estadística fue inferida con un alfa de 0.05.

Para determinar si había diferencias entre la estructura de las poblaciones analizadas, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA) de datos multilocus entre las dos poblaciones en el software Darwin 6 (Perrier and Jacquemoud 2006). Para inferir la estructura de las poblaciones se usó un modelo basado en estadística bayesiana utilizando el programa STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard et al. 2000). Se seleccionó un k de 5 ($K=1$ a $K=5$) y un total de 10 iteraciones. El modelo que se seleccionó fue el de admixture con un alfa inferida y frecuencias alélicas relacionadas en una $\lambda = 1$. El máximo de pasos de burning fue de 30000 y 100000 pasos de cálculos Markov Chain Monte Carlo (MCMC).

El K óptimo fue inferido usando el método de Evano (Evano et al. 2005) empleando el programa Structure Harvester (Earl and vonHoldt, 2012). Para encontrar el alineamiento óptimo de los clústeres obtenidos en STRUCTURE se utilizó el programa CLUMPP v. 1.1.2 (Jakobsson and Rosenberg, 2007) y para graficar el resultado fue usado el programa DISTRUCT v.1.1 visualizando el clúster final con Adobe Illustrator.

5.3 Análisis de ecología trófica

Análisis de isótopos estables

Las muestras de músculo utilizadas para el análisis de isótopos estables fueron en primer lugar liofilizadas en el Laboratorio de Biotecnología Agrícola de la Universidad San Francisco de Quito. En un liofilizador IShin BioBase FREEZE DRYER, modelo TDF5503, serie LE3001 a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 60 mTorr.

Para el análisis de isótopos estables se utilizó un peso entre 0.4 y 0.6 mg de cada muestra. El primer paso fue la incineración en un analizador de elementos Costech ECS4010. Posteriormente las proporciones de isótopos estables de Nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) fueron analizados en un espectrómetro de masas Thermo Delta (IRMS) en el Centro de Ciencias Marinas en la Universidad de Carolina del Norte en Wilmington. Los valores de Nitrógeno y Carbono fueron normalizados utilizando materiales de referencia. El material de referencia fue ácido glutámico empobrecido y enriquecido (USGS-40: $\delta^{13}\text{C} = -26.4\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = -4.5\text{‰}$; USGS-41 $\delta^{13}\text{C} = 37.6\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = 47.6\text{‰}$). La precisión de la muestra, basada en un muestreo repetido de los materiales de referencia fue 0.1‰ y 0.2‰ para $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ respectivamente.

Las muestras de aletas en los análisis isotópicos no presentaron ninguna dificultad pues en algunos estudios como el de Kelly et al. (2006) sugieren que las aletas pueden usarse en lugar del músculo en los análisis de isótopos estables en peces.

Corrección de lípidos

Teniendo en cuenta que el $\delta^{13}\text{C}$ medido en las muestras no solo refleja la dieta de un individuo, también refleja la composición lipídica de cada tejido que difiere

entre individuos, tejidos, y especies. Existen dos métodos para poder eliminar el efecto de los lípidos sobre el carbono, el primero de ellos es la extracción química de lípidos y el segundo son correcciones matemáticas. Sin embargo, remover lípidos puede alterar de manera negativa los valores de nitrógeno (Sardenne et al. 2015, Svensson et al. 2015, Skinner et al. 2015) y no es necesario remover lípidos cuando se quiere analizar ecología trófica (Richert et al. 2015). Las correcciones matemáticas permiten que las investigaciones disminuyan los elevados costos de la extracción de lípidos y así mismo proporciona las ventajas de la corrección de lípidos sobre los valores de carbono (Sardenne et al. 2015). Por tanto, en este estudio se utilizó la ecuación de Post et al. (2007), probada por Sardenne et al. (2015) en atunes tropicales dentro de los que se encontraba el atún aleta amarilla para normalizar los resultados obtenidos de carbono. La corrección aplicada para el Carbono fue:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{normalizado}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{sincorrección}} - 3.32 + 0.99 * \text{C:N}_{\text{sincorrección}}$$

Análisis estadísticos

Se realizó una predicción del tamaño de los individuos que llegaron sin cabeza a los puertos de pesca. Mediante una regresión lineal usando 67 individuos de los que se obtuvo la medida con cabeza y sin cabeza fue posible realizar la estimación de la longitud estándar de 134 individuos.

Previo a los análisis inferenciales, las variables de respuesta (longitud estándar, el $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ y concentraciones de Mercurio) fueron inspeccionadas por normalidad (Prueba de Kolmogorov- Smirnov) y por homogeneidad de la varianza (Prueba de Levene). En todos aquellos casos de incumplimiento severo

de alguna de estas dos condiciones ($p < 0.05$) para los análisis de inferencia se usó métodos no-paramétricos.

Las diferencias entre los atunes de Galápagos y los de la parte continental, así como entre la época fría y la época caliente, en cuanto a su longitud estándar, el $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ y las concentraciones de Mercurio en peso seco (Hg ppm) fueron evaluadas mediante la prueba U de Mann-Whitney.

La relación entre el tamaño y las concentraciones isotópicas y los niveles de Mercurio fue explorada mediante correlaciones univariadas no-paramétricas (coeficiente de correlación de Spearman). De la misma manera, también se evaluó la correlación entre las concentraciones de Nitrógeno versus las concentraciones de Mercurio y carbono respectivamente.

Finalmente se realizó a pesar de incumplir el supuesto de normalidad, una prueba de análisis multivariado de la varianza (MANOVA) utilizando como factores fijos la temporada y la localidad contra las cuatro variables dependientes anteriormente mencionadas. Así mismo se realizó el equivalente no paramétrico de la prueba de MANOVA, el PERMANOVA (Anderson, 2001) con el objetivo de contrastar los resultados.

Finalmente se dividieron las áreas de pesca de Galápagos según lo sugerido por Harris (1973) y se analizaron las mismas variables de respuesta en 6 localidades: Galápagos Sur, Galápagos Norte, Galápagos Oeste, Galápagos Sur-Central y continente ecuatoriano.

Para los análisis estadísticos se usó el programa SPSS v.22 (IBM Corp 2013) y PAST (Hammer and Harper 2001).

5.4 Concentraciones de mercurio y estándares de contaminación

Para los análisis de Mercurio las muestras fueron liofilizadas. Según lo reportado por Schmidt et al. (2013) la liofilización de las muestras de pescado no influye en nada para el análisis de mercurio.

Las medidas de Mercurio total en los tejidos se realizaron en un analizador de mercurio Milestone DMA-80. Este método no implica gran manipulación de la muestra (Cizdiel et al. 2002), y utiliza una descomposición termal, amalgamación y espectrofotometría de absorción atómica (EPA 1998) con un límite de detección de 0.01ng de mercurio. Los materiales certificados preparados por El Concilio de Investigación Nacional de Canadá, Instituto de Química Medioambiental (Ottawa, Canadá) utilizados para calibrar el DMA-80 fueron DORM-4 (Proteína de pescado) y DOLT-5 (Hígado de Cazón). Las curvas de calibración fueron lineales, y fueron analizadas muestras de DOLT-5 y DORM-4 de manera independiente. Las muestras fueron analizadas una vez. También fueron usados blanco (muestras testigo) al iniciar la corrida y después del análisis de 20 muestras. Los valores se obtuvieron en partes por millón (ppm) en peso seco, sin embargo, para realizar comparaciones los valores fueron convertidos ppm peso húmedo utilizando un porcentaje de humedad del 70% reportado por Teffer et al. (2014).

Todo el Mercurio encontrado en estos los atunes fue asumido como metilmercurio, ya que está demostrado que entre el 90% y el 100% del Mercurio total encontrado en los tejidos de peces especialmente predadores tope, se encuentra en forma de Metilmercurio (Kraepiel et al. 2003, García-Hernández et al. 2007, Driscoll et al. 2013, Colman et al. 2015, Bosch et al. 2016, FAO and WHO 2016).

De los atunes de la región continental el Mercurio fue medido en aletas. Mediante un modelo predictivo con base a una regresión lineal de 20 individuos en los cuales se midió el nivel de Mercurio en aletas y tejido muscular, se predijo la concentración de Mercurio de 76 individuos.

Para llevar a cabo este análisis en primer lugar se procedió a transformar los valores de mercurio obtenidos en peso seco a valores en peso húmedo. Esto se realizó debido a que los valores tolerables de ingesta aprobados a nivel internacional por FAO/WHO están estimados en peso húmedo. El pescado es consumido en grandes proporciones de forma cruda. La transformación de los valores en peso seco a peso húmedo se realizó utilizando un porcentaje de humedad de 70% según lo reportado por Teffer et al. (2014) para atún aleta amarilla.

El riesgo de la ingesta de metales semanalmente fue estimado mediante el cálculo de la ingesta semanal tolerable (PTWI) de acuerdo con la recomendación establecida por FAO/WHO (2016), $1.6 \mu\text{g kg}^{-1}$ (masa corporal) de mercurio. El cálculo se realizó para una persona normal con 70 Kg de masa corporal. La fórmula matemática utilizada fue:

$$\text{Ingesta semanal} = (1,6 \mu\text{g kg}^{-1} * 70 \text{ Kg}) / \text{Mercurio ppm}$$

En donde 1,6 corresponde a la ingesta máxima permitida semanalmente (FAO/WHO, 2016). 70 Kg corresponde a la masa corporal de una persona con un peso normal. Mercurio en ppm es la concentración de mercurio en peso seco encontrada en un atún aleta amarilla.

6. Resultados

6.1 *Tamaño de los atunes*

En total se colectó 347 individuos. El tamaño de los atunes muestreados osciló de 34 a 200 centímetros de longitud estándar (talla) (Tabla 5). Las tallas de los individuos de Galápagos fueron significativamente diferentes a las tallas de los individuos del continente ($u = 2815.5$, $p = 0.000$). Los atunes de mayor tamaño fueron más abundantes en Galápagos (Figura 3), la parte Norte de Galápagos presentó los individuos más grandes. La talla de los atunes también fue diferente entre la época caliente y la época fría ($u = 17602$, $p = 0.000$) (Figura 4). Tanto en Galápagos como en el continente durante la época caliente se observaron atunes de mayor tamaño. El 62.3 % de todos atunes presentó un tamaño menor a 75 cm que es la talla de madurez sexual establecida por Zudaire et al. (2013). Del 62.3 % de los atunes que posiblemente no eran maduros sexualmente, solo el 3 % de los atunes fueron capturados en el continente, el 59.33% restante fue capturado en Galápagos.

6.2 *Diversidad genética*

Extracción y cuantificación de ADN

Se extrajo ADN de 160 muestras de atunes aleta amarilla colectados durante la época fría, 49 del continente ecuatoriano y 111 de la RMG. La concentración de ADN obtenido varió entre 1.8 a 170.3 ng/ μ L.

Amplificación por PCR

De los 160 individuos analizados inicialmente se obtuvo amplificación para los 12 primers en 146 individuos. En 14 individuos no se obtuvo amplificación por lo que las muestras fueron descartadas del estudio.

Las amplificaciones de los 12 pares de primers de los 146 individuos fueron secuenciadas en el Smithsonian Institute. Se obtuvo datos de secuenciación para 143 individuos, las tres muestras restantes fueron debido a contaminación fueron no fueron analizadas. Cuando se analizó los picos alélicos, no hubo información completa para 34 muestras. Esta información incompleta fue eliminada en análisis posteriores. Por lo tanto, el análisis de datos final se realizó con 109 individuos: 79 de la RMG y 30 del continente ecuatoriano. De la misma manera, se eliminó del análisis el primer cmrTa-144 por ser homocigoto en todos los individuos estudiados.

Análisis de datos

Se analizaron 11 loci microsatélites de 109 individuos de atún aleta amarilla. El número de alelos varió desde 8 a 31 alelos por locus. La riqueza alélica entendida como el promedio de alelos por cada locus tuvo un rango de 10.76 a 25.71. El tamaño en pb de los alelos por cada locus estuvo dentro del tamaño reportado por los autores que diseñaron estos primers (Appleyard et al. 2001, Antoni et al. 2014). La heterocigosidad observada tuvo un rango de 0,3939 a 0,9706. La heterocigosidad esperada tuvo un rango de 0,7347 a 0,9433. La heterocigosidad observada fue significativamente menor que la heterocigosidad esperada ($t = 4.31$, $p < 0.05$). Tanto la heterocigosidad esperada como el número

de alelos por locus tuvieron valores muy similares al reportado por Antoni et al. (2014) y Appleyard et al. (2001) (Tabla 2).

Se midió el equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) en los loci analizados. 5 de los 11 loci (YT95, YT12, YT24, YT121, YT101) se desviaron significativamente del equilibrio de H-W (Tabla 2). Se calculó el estadístico F_{st} para determinar la diferenciación genética entre los individuos de Galápagos y el continente. El valor calculado para el F_{st} fue de 0.005 ($P < 0.05$). Los valores del F_{st} oscilan entre cero y uno, cero significa que no existe diferenciación genética entre las dos poblaciones y uno significa que las poblaciones son genéticamente diferentes (Holsinger and Weir 2009). El valor obtenido en el presente estudio indica una mínima diferenciación entre los individuos de Galápagos y el continente.

Se calculó el estadístico F_{is} o índice de endogamia que mide la relación de los alelos de un individuo y la población a la que pertenece (Holsinger and Weir 2009). El máximo valor para el F_{is} es 1, indicando que la población está bajo endogamia. En este estudio el índice de endogamia para cada locus, este osciló entre 0.0398 hasta 0.4835 (Tabla 3).

El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró que no existe variabilidad intrapoblacional (0%) y que entre los individuos existe poco porcentaje de variación (17%) (Tabla 4).

Para conocer la estructura poblacional entre los individuos de Galápagos y el continente se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA) y un análisis de inferencia bayesiana en el software STRUCTURE. Para estos análisis se utilizaron los primers que se encontraban en equilibrio de H-W. Por lo que se utilizaron solo 6 de los 11 primers analizados (YT84, YT60, YT87, YT94, YT103,

YT111. El análisis de coordenadas principales (PCoA) dio como resultado una distribución homogénea entre los individuos de Galápagos y el continente. Cada punto de color representa un individuo de atún aleta amarilla colectado, el color naranja representa los individuos colectados en Galápagos y el color verde representa los individuos colectados en el continente (Figura 5). En el análisis que se realizó con en el software STRUCTURE se utilizó datos genéticos multilocus y se evaluaron 5 valores de K. El valor de K óptimo fue de 2 y se determinó usando el estadístico Delta K basado en el logaritmo de la probabilidad de cada valor de K (Evano et al. 2005) en STRUCTURE Harvester (Figura 6). Los resultados obtenidos en STRUCTURE Harvester fueron utilizados para hacer un consenso de clústeres en CLUMMP v.1.1.2 y el resultado obtenido se graficó en el software DISTRUCT v.1.1 y fue visualizado utilizando Adobellustrator. En el clúster resultante se observa que los individuos de Galápagos y el continente pertenecen a una sola población que posiblemente se deriva de dos linajes (Figura 7).

6.3 Análisis de isótopos estables

Los valores isotópicos de Carbono y Nitrógeno en los tejidos tuvieron diferencias significativas entre las localidades (Tabla 5). Las concentraciones de Carbono fueron mayores en el continente ($u = 24224$, $p = 0.000$); de la misma manera las concentraciones de Nitrógeno fueron mayores en esta región ($u = 16356$, $p = 0.000$). Durante la época caliente y la época fría, también se presentaron diferencias significativas en las concentraciones de Carbono y Nitrógeno (Tabla 5). La época caliente tuvo valores más altos de Nitrógeno ($u = 24326$, $p = 0.000$) y Carbono ($u = 12943$, $p = 0.000$) tanto en el continente como en Galápagos.

Entre las concentraciones de Nitrógeno y la longitud estándar se encontró relación ($r = 0.111$, $p = 0.000$) (Figura 11). Los atunes de mayor tamaño presentaron mayores concentraciones de Nitrógeno. El Carbono y la longitud estándar también presentaron una relación ($r = -0.455$, $p = 0.000$). Los atunes de menor tamaño presentan mayores concentraciones de Carbono (Figura 12). Los valores de Nitrógeno y Carbono no tuvieron una relación ($r = 0.103$, $p = 0.056$).

Las diferencias de las concentraciones isotópicas de Carbono y Nitrógeno entre Galápagos y el continente fueron corroboradas por el análisis de PERMANOVA ($F = 74.769$, $p = 0.0001$). De igual manera se encontraron resultados similares entre las dos temporadas ($F = 16.384$, $p = 0.0001$).

La relación entre las concentraciones de Nitrógeno y Carbono arrojaron resultados similares a los resultados obtenidos para cada uno de los elementos. La época caliente presentó mayores concentraciones de Carbono y Nitrógeno tanto en Galápagos como en el continente (Figura 15).

6.4 Concentraciones de Mercurio y estándares de contaminación

Las concentraciones de Mercurio tuvieron diferencias significativas entre Galápagos y el continente ($u = 3928$, $p = 0.000$). Los atunes colectados en Galápagos presentaron mayor concentración de Mercurio que los atunes del continente (Figura 10), y los individuos del Norte de Galápagos presentaron las mayores concentraciones de Mercurio de todos los individuos colectados. Entre la época caliente y época fría, la concentración de Mercurio no tuvo diferencias significativas ($u = 14923$, $p = 0.873$) (Figura 10).

Los valores de Mercurio tuvieron relación con la talla de los atunes ($r = 0.579$, $p = 0.000$). Los atunes que presentaron mayor talla tuvieron mayor concentración

de Mercurio (Figura 13). El Mercurio no tuvo relación con las concentraciones de Nitrógeno ($r = 0.025$, $p = 0.644$). Sin embargo, entre el Mercurio y las concentraciones de Carbono si hubo una relación ($r = -0.368$, $p = 0.000$), a menores concentraciones de Carbono mayor concentraciones de Mercurio (Figura 14).

Al transformar los valores de Mercurio en peso seco a peso húmedo para poder comparar los resultados del presente estudio con lo encontrado por otros autores. Se encontró que estos valores oscilaron entre 0.063 hasta 6.14 ‰, siendo el presente estudio el que reporta mayores concentraciones de Mercurio en atún aleta amarilla. Los límites máximos permisibles establecidos por la FAO/WHO (2016) son de 1 ‰ de Mercurio en carne de atún aleta amarilla. El 8% de los atunes del presente estudio estuvieron por encima de los límites establecidos.

Para determinar los gramos de atún aleta amarilla que una persona debería consumir, la FAO/WHO (2016) estableció un valor de 1,6 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ por Kg de masa corporal de cada consumidor. Basados en la masa corporal de un ecuatoriano de 70Kg y utilizando el promedio de Mercurio que tuvieron los individuos analizados. Se estima que un total de 222 gramos por semana de atún aleta amarilla deberían ser ingeridos para no estar en riesgo por contaminación por mercurio.

7. Discusión

7.1 Tamaño de los atunes

La talla del atún aleta amarilla es directamente proporcional a su edad (Wild 1986). Los atunes adultos a diferencia de los juveniles, tienen la capacidad de bucear a mayores profundidades ya que son más tolerantes a bajas temperaturas y concentraciones de oxígeno (Schaefer et al. 2014). Los artes de pesca de atún están diseñados en base a comportamientos y fisiología de estos peces (Sharp 2001). Los artes de pesca más cercanos a la superficie normalmente capturan individuos juveniles y de menor longitud, a diferencia de los artes de pesca de profundidad que capturan individuos adultos y de mayor longitud (CIAT 2015). La diferencia de tamaños que se captura con los distintos artes de pesca fue observada en el presente estudio. Los individuos capturados en el continente presentaron tallas menores en comparación a los individuos de Galápagos. Entre los individuos capturados en el continente se observó que algunos (3%) presentaron tallas grandes (> 75 cm). Estos individuos fueron capturados con anzuelo en el puerto de Santa Rosa, sin embargo, el 94% de la pesca de este puerto proviene de redes (Martínez – Ortiz et al. 2015). Debido a la diferencia entre los artes de pesca utilizados no es posible determinar el estado de la población en base a la estructura de tallas.

Los individuos juveniles no solo se ven afectados por la pesca artesanal en esta región. Ecuador es el octavo país del mundo que captura mayor cantidad de atún proveniente de redes de cerco industriales que utilizan embarcaciones de mayor tamaño para capturar atunes (Galland et al. 2016, Martín et al. 2016). Las redes de cerco capturan principalmente individuos juveniles (Kolody et al. 2016). La

sobrepesca de individuos juveniles (crecimiento) tiene grandes problemas en la abundancia de los individuos de una población (Siskey et al. 2016).

7.2 Diversidad genética

A lo largo del tiempo se han desarrollado estudios que han permitido conocer la diversidad genética de las poblaciones de una de las especies comerciales más importantes como es el atún aleta amarilla (Díaz and Uribe 2006, Aguila et al. 2015, Grewe et al. 2015, Percorano et al. 2016). Inicialmente se pensaba que existía una sola población de atún aleta amarilla que migraba entre los océanos. Actualmente los planes de manejo están basados en la hipótesis de 4 stocks de atún aleta amarilla en el mundo (International Seafood Sustainability Foundation 2016). No obstante, la estructura de la población de atún aleta amarilla a nivel mundial no ha sido resuelta todavía (Percorano et al. 2016). Ward et al. (1994) encontraron la existencia de 4 stocks de atún aleta amarilla correspondientes al Océano Atlántico, Indico, Pacífico Oeste y Este respectivamente, utilizando marcadores de ADN mitocondrial, RFLP y aloenzimas. Percorano et al. (2016) encontraron también una diferencia entre las poblaciones de atún aleta amarilla correspondientes a los océanos Indico, Atlántico y Pacífico, utilizando 2b-RAD, una novedosa técnica que utiliza la enzima de restricción IIB para fragmentar el ADN y posteriormente secuenciarlo. Además de la evaluación de los stocks de atún aleta amarilla de los tres océanos, también se han realizado estudios para conocer si existe más de una población dentro de los océanos. Se ha encontrado la existencia de más de una población de atún aleta amarilla dentro del Océano Pacífico e Indico (Appleyard et al. 2001, Wu et al. 2010, Kunal et al. 2013, Aguila et al. 2015).

En el presente estudio, el análisis de la diversidad genética de los individuos de atún aleta amarilla capturados en la RMG y el continente ecuatoriano mostró una alta variabilidad genética medida por el número de alelos y la riqueza alélica por locus en cada individuo. El número de alelos por locus osciló entre 8 y 31 alelos y la media de la riqueza alélica por locus por población fue de 19.30. El número de alelos encontrado fue muy similar al reportado por Antoni et al. (2014) y por Appleyard et al. (2001) en poblaciones de atún aleta amarilla del Pacífico Occidental. Un alto número de alelos dentro de una población permite que las poblaciones tengan mayor capacidad de adaptarse a procesos como cambios ambientales (Greenbaum et al. 2014).

Otras de las medidas de diversidad genética analizadas fueron la heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o). La H_e tuvo un rango de 0.7347 a 0.9433, estos valores son semejantes a los reportados para los mismos loci por Antoni et al. (2014). La H_o tuvo un rango de 0.3939 a 0.9706 y fue significativamente menor a la H_e . Según lo encontrado en el índice F_{is} , no existe un exceso heterocigotos en la población. Algunos estudios sugieren que la presión pesquera puede afectar la diversidad genética de la población y por lo tanto es evidente una reducción de los individuos heterocigotos, esta reducción de heterocigotos genera una pérdida de variación genética en las poblaciones (Smith et al. 1991, Hauser et al. 2002, Hoarau et al. 2005). La pérdida de la variación genética puede ocurrir a través de selección natural o artificial de los individuos de una población, esta selección puede traer como resultado la deriva genética o la endogamia de una población debido a la reducción del tamaño de la misma. Sin embargo, no es fácil identificar la naturaleza, intensidad y dirección de las fuerzas selectivas que operan en una población en particular (Ryman et

al. 1995). La pérdida de la variación genética en una población puede reducir la productividad en poblaciones que son comercialmente explotadas. Perder diversidad genética debido a la extracción masiva de individuos de una población tiene como consecuencia la estructura poblacional y posterior extinción de una población (Alledorf et al. 2008). En poblaciones de especies marinas cuya característica principal son los grandes tamaños, la pérdida de heterocigosidad es menos evidente debido al gran número de individuos de las poblaciones, por lo que es de gran importancia mantener un monitoreo constante de estas poblaciones cuando son explotadas comercialmente (Ryman et al. 1995).

De los 11 loci analizados, 5 (YT95, YT12, YT24, YT121, YT101) estuvieron en desequilibrio de H-W ($p < 0.0001$). El equilibrio de H-W de los 6 loci restantes (YT84, YT60, YT87, YT94, YT103, YT111) osciló entre 0.00001 hasta 0.8857. Debido al desequilibrio H-W reportado para estos loci por Antoni et al. (2014), no es posible sugerir una causa de este desequilibrio, sin embargo, es importante analizar más primers en estos individuos para tener una idea más clara de cómo se encuentra la población.

En el índice de fijación alélica (F_{st}) se obtuvo un valor de 0.05 ($p < 0.05$), indicando que existe una mínima diferenciación genética entre los individuos de Galápagos y el continente, estos resultados reflejan que no existe aislamiento reproductivo. La mínima diferenciación genética encontrada fue similar al análisis de varianza molecular (AMOVA) entre Galápagos y el continente, en donde se observa que el porcentaje de variación es 0%. Este resultado al igual que las medidas de diversidad sugieren que existe flujo genético entre los individuos de las dos localidades analizadas. Los resultados obtenidos en el PCoA y en el clúster

siguen la misma tendencia, mostrando que los individuos de Galápagos y el continente pertenecen a una sola población.

Como se menciona anteriormente, los resultados del análisis genético sugieren la existencia de una sola población de atún aleta amarilla entre la RMG y el continente ecuatoriano. Sin embargo, a lo largo del océano Pacífico se han analizado otras poblaciones que han mostrado la existencia de dos o más poblaciones de atún aleta amarilla. Ward et al. (1994) encontraron diferencias entre las poblaciones que habitan la parte occidental y este de esta región. De la misma manera, utilizando 7 marcadores microsatélites Díaz and Jaimes (2006) encontraron una diferenciación discreta entre las poblaciones Norte y Sur del Pacífico separadas por el Ecuador. Appleyard et al. (2001) no encontraron una estructura poblacional entre los individuos de atún aleta amarilla en el Pacífico Occidental, sin embargo, Aguila et al. (2015) encontraron dos subpoblaciones de atún aleta amarilla en la región occidental y central del Pacífico, utilizando 9 marcadores microsatélites. En el atún aleta azul (*Thunnus thynnus*), se ha observado que la estructura de las poblaciones es cada vez mayor, los autores sugieren que este resultado se debe posiblemente a la sobreexplotación de esta especie ya que la pesca tiene efectos en la estructura de edades y en la edad de madurez sexual de una especie (Riccioni et al. 2010).

Además de los diferentes análisis genéticos en las poblaciones de atún aleta amarilla en Pacífico Este, se han realizado estudios de movimientos con marcas satelitales. Schaefer et al. (2014) encontraron fidelidad regional del atún aleta amarilla en las islas Revillagigedo ubicadas en México, los atunes marcados se mantuvieron dentro de las 810 MN (1500 Km) en un periodo de 90 a 1773 días. Estos autores sugieren que el manejo de atún en el Pacífico Este se debe basar

en modelos reales que incluyan dinámica de movimientos, tasas de mortalidad y características de la historia de vida, pues asunciones poco realistas como la existencia de un solo stock puede traer grandes problemas para la especie.

El atún aleta amarilla suele ser abundante en regiones cercanas a islas e islotes en donde encuentran gran abundancia de alimento (Miller 2007, Shaefer et al. 2007, Schaefer et al. 2011, Schaefer et al. 2014), lo que también se observa en Galápagos donde debido a sus condiciones oceanográficas, existe una gran cantidad de especies. En base a lo encontrado por Schaefer et al. (2014) en su estudio de telemetría, el hallazgo de una población de atún en el presente estudio puede estar relacionado con la distancia entre los sitios en donde fueron capturados los individuos, pues existe aproximadamente 1300 Km entre Galápagos y el continente ecuatoriano. Esta distancia es menor al rango de residencia establecido por los autores.

La existencia de una población aleta amarilla entre la RMG y el continente ecuatoriano, es un resultado que puede ser usado para las políticas de manejo de pesquerías en el país. Horodysky et al. (2016) estiman que las poblaciones de atún aleta amarilla en la mayoría de los océanos se encuentra cerca de ser sobre explotadas o están en sobrepesca. Del océano Pacífico se obtiene el 12% del atún del mundo, la explotación indiscriminada en esta región puede a futuro determinar una pérdida de variación genética, lo que hará a las poblaciones más susceptibles a la extinción (Lalkre et al. 2005). El Instituto Nacional de Pesca del Ecuador (2016) reportó un incremento entre 2014 y 2015 de las capturas de atún aleta amarilla, ascendiendo de 3088 toneladas a 6298 toneladas pescadas en la región continental y de 7634 a 12064 toneladas pescadas en aguas insulares (Galápagos).

Las islas del Pacífico son ecosistemas bastante explotados por extracción de recursos alimenticios (Bell et al. 2011, Zeller et al. 2015), por lo que es de gran importancia realizar un seguimiento a la población de atún aleta amarilla en esta área, que además de verse afectada por las pesquerías, también es afectada por factores ambientales que afectan de las condiciones normales de la especie.

7.3 Ecología trófica.

La edad del atún aleta amarilla es directamente proporcional a su talla (Wild 1986). Esta especie de atún a lo largo de su ontogenia va modificando la dieta y por tanto va teniendo cambios de nivel trófico. Los juveniles consumen presas diferentes en comparación a los adultos (Graham et al. 2007). Para identificar estas diferencias de nivel trófico en una especie e inferir su estructura de edades, el Nitrógeno es una herramienta útil. La estructura de edades de los individuos de una población que es comercialmente explotada permite inferir como se encuentra dicha población (Siskey et al. 2016). En el presente estudio se encontró relación entre la talla de los atunes y sus concentraciones de Nitrógeno. Los atunes más grandes presentaron mayores concentraciones de Nitrógeno. Sin embargo, muchos autores han encontrado que, aunque existe relación lineal entre el Nitrógeno y la longitud del atún aleta amarilla, no es posible utilizar el Nitrógeno como estimador del nivel trófico de un individuo (Ménard et al. 2007, Olson et al. 2010), principalmente debido a la regionalidad que ha sido reportada en la especie. Graham et al. (2010) sugieren que la variación isotópica del nitrógeno en el atún aleta amarilla es resultado de variaciones geográficas. Los valores de Nitrógeno dependen de las distintas dinámicas de N_2 en los organismos de niveles tróficos bajos (Zudaire et al. 2015), principalmente del plancton que es el encargado de la fijación de este compuesto para que empiece

a circular por la cadena trófica (Gruber 2016). Las variaciones de Nitrógeno en el presente estudio fueron mayores en el continente. En base a nuestros resultados es posible sugerir una diferencia en la dinámica del Nitrógeno existente entre Galápagos y el continente. Raftter and Sigman (2016) sugieren que a lo largo del Pacífico Este las concentraciones de Nitrógeno varían, especialmente, durante temporadas y entre temperaturas. Esta diferencia entre la estructura trófica de Galápagos y el continente tiene relación con la diferencia de tallas encontrada entre las dos regiones. En el continente se capturaron casi en su totalidad individuos juveniles, los cuales según Schaefer et al. (2007) no recorren grandes distancias horizontales. Por lo que posiblemente solo conservan la firma isotópica de la región continental, mientras los atunes capturados en Galápagos después de haber recorrido más distancia pueden tener las firmas isotópicas de las dos regiones. Así mismo, la influencia de la corriente fría de Humbolt que transporta gran cantidad de nutrientes y que ingresa por el Sur del Ecuador también apoya estos resultados de una mayor concentración de Nitrógeno en la región continental.

La época caliente tanto en Galápagos como en el continente presentó mayores concentraciones de Nitrógeno, esto puede ser resultado de la relación que existe entre el Nitrógeno y la talla de un individuo, pues los atunes de que presentaron tallas más grandes fueron capturados en esta época. Otra de las posibles explicaciones a este resultado es la preferencia del atún aleta amarilla por las temperaturas mayores a 24°C para desovar cuando son individuos adultos y para alimentarse, crecer y desarrollar endotermia, cuando son individuos juveniles (Graham and Dickson 2001). Las concentraciones de Nitrógeno mayores durante la temporada caliente tanto en Galápagos como en el

continente pueden ser resultado de la preferencia del atún aleta amarilla por las aguas de mayor temperatura.

Los isótopos de Carbono son útiles para determinar el área de productividad en donde forrajea un individuo (Walker et al. 1999). Los valores altos de carbono están asociados a zonas de alta productividad primaria mientras los valores bajos a zonas de lenta productividad (Davenport and Bax 2002, Cherel and Hobson 2007, Graham et al. 2010). Las concentraciones de Carbono fueron más altas en la región continental, este resultado puede ser producto de la relación inversa entre el Carbono y la talla. Este resultado fue encontrado por Schaefer et al. (2014) quienes reportaron que los individuos juveniles normalmente forrajean en áreas con mayor productividad primaria. En el continente se observa mayor variabilidad entre las épocas caliente y fría con respecto a Galápagos. Este resultado puede obedecer a las diferencias de tallas entre los individuos de cada localidad. Por otra parte, en el continente se observó mayores concentraciones de Carbono durante la época caliente, lo que puede ser resultado de la uniformidad de tallas de los individuos durante esta época, ya que en relación en la época fría no hubo presencia de individuos grandes. Galápagos en cambio presenta menos variación en las concentraciones de Carbono, los individuos capturados en Galápagos presentaron tallas mayores, por lo que la baja variación y poca concentración de Carbono puede estar relacionada con las tallas. La pequeña diferencia entre la concentración de Carbono durante las dos épocas en Galápagos, siendo la época fría la que presenta mayores concentraciones puede ser resultado de los afloramientos reportados para la región de Galápagos durante la época fría cada año por Witman et al (2010).

7.4 Concentraciones de mercurio y estándares de contaminación

La contaminación en atunes es un indicador de la contaminación del océano (Chen et al. 2014). Según lo reportado por Bonito et al. (2015) en la región del Pacífico Este Sur los estudios sobre contaminantes en el mar son muy pocos. El presente estudio que evaluó las concentraciones de Mercurio en el tejido de individuos de atún aleta amarilla es gran importancia para conocer los niveles de contaminación de este metal que existen en la RMG y el continente ecuatoriano.

El uso de los isótopos de Nitrógeno como indicadores de la posición trófica en una especie han permitido en muchos estudios estudiar la biomagnificación del Mercurio (Teffer et al. 2014). Sin embargo, los resultados de esta investigación no mostraron relación entre el Nitrógeno y el Mercurio.

Los resultados permiten inferir que entre los individuos de Galápagos y el continente existen diferencias en las concentraciones de Mercurio presente en sus tejidos. Los individuos capturados en el continente presentaron menores concentraciones de Mercurio en sus tejidos. Estos resultados pueden ser explicados por las diferencias de talla de los individuos de las dos localidades, y dentro de Galápagos pues los individuos más grandes que fueron capturados al Norte de Galápagos presentaron las mayores concentraciones de Mercurio. Sin embargo, las diferencias entre el tipo de tejido en el que fue analizado el Mercurio también puede tener efectos sobre estos resultados. Los resultados encontrados son semejantes a lo descrito por Cai et al. (2007) en el Golfo de México. Quienes reportaron una relación positiva entre la concentración de mercurio y el tamaño del atún aleta amarilla. Esta relación sugiere que existe biomagnificación de mercurio ingerido en el ecosistema marino.

Ferris and Essington (2011) sugieren que la concentración de mercurio en los predadores marinos está relacionada con características oceanográficas. Sin embargo, ya que solo fue medido el mercurio en los individuos de atún aleta amarilla no es posible establecer ninguna relación entre los parámetros físicoquímicos y oceanográficos entre las localidades. Por otra parte, no se encontró diferencias entre las concentraciones de mercurio entre cada temporada, lo que permite sugerir que la contaminación de mercurio en esta región se está distribuyendo de la misma manera.

Para realizar comparaciones con otros estudios las concentraciones en peso seco fueron transformadas a peso húmedo. El rango en de mercurio en los individuos pescados en la RMG varió entre 0.0917 a 6.8197 mientras que el rango de los individuos capturados en la región continental osciló entre 0.0703 hasta 3.1385. El presente estudio se comparó con otros estudios realizados en la misma especie. Las concentraciones de Mercurio reportas por este estudio son las mayores en comparación con los estudios comparados (Tabla 5). Se observa un aumento en las concentraciones de mercurio a lo largo del tiempo. Esto es congruente con lo encontrado por Drevnick et al. (2015) quien reporta que la concentración de Mercurio en atún aleta amarilla incremento 3.8% por año desde 1998 a 2008 al norte del océano pacífico.

De acuerdo a lo establecido por la FAO/WHO (2016) para una persona de promedio con 70 Kg de masa corporal, el índice de ingesta permitido es 1.6 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Utilizando la media de los datos encontrados en este estudio (0.505) se estimó que un ecuatoriano con 70Kg de peso debería consumir a la semana un aproximado de 222 gramos de atún aleta amarilla para con encontrar en riesgo de contaminación por ingesta de Mercurio.

Debido a la actual preocupación por la ingesta de metales pesados como Mercurio encontrado en la comida del mar han surgido recomendaciones para la población mundial que sugieren el consumo de animales de pequeños para evitar riesgos en la salud (Storelli et al. 2007, Gribble et al. 2016). Sin embargo, este tipo de decisiones pueden afectar ecológicamente a las poblaciones pues las pesquerías van a ser aún más selectivas afectando de manera más radical a las poblaciones comerciales.

Los peces pueden tener efectos adversos en su crecimiento y sobrevivencia cuando se exponen a altos niveles de Mercurio. Los peces piscívoros tienen un riesgo elevado por estar expuestos a gran toxicidad. Los efectos fisiológicos que puede causar el Mercurio son alteración en ciclo reproductivo, problemas comportamentales, inmunológicos y neuroquímicos, daños en los neurotransmisores entre otros (Scheuhammer et al. 2007, Crump and Trudeau 2009). Las concentraciones encontradas de Mercurio en este estudio pueden estar afectando las poblaciones de atún aleta amarilla. La modificación de las características de los individuos como su ciclo reproductivo puede traer a futuro consecuencias en la estructura de una población.

Es de gran importancia continuar el estudio de la población de atún aleta amarilla en esta región para conocer de qué manera la población se va enfrentando a los factores ambientales y a las pesquerías.

8. Conclusiones

- Los artes de pesca utilizados en la RMG y el continente ecuatoriano están capturando individuos de diferentes tamaños. En el continente se capturan individuos que en su gran mayoría no han alcanzado la madurez sexual. Remover individuos juveniles en grandes cantidades afecta la estructura de edades de una población.
- Dentro de la Reserva Marina de Galápagos y el continente ecuatoriano existe una sola población de atún aleta amarilla.
- La población de atún aleta amarilla analizada presenta una disminución de heterocigotos, es importante contar con más análisis para poder sugerir que proceso está afectando la población.
- Los isótopos de Nitrógeno sustentaron la hipótesis de la preferencia del atún aleta amarilla por aguas con mayor temperatura.
- Aunque existió relación entre las concentraciones de Nitrógeno y la talla de un individuo, los datos sugieren que el Nitrógeno no debería ser usado para inferir la edad de un individuo en base a su nivel trófico.
- Las concentraciones de Carbono al igual que otros estudios mostraron que los individuos juveniles de atún aleta amarilla forrajean en área de alta productividad primaria, cerca de la superficie del agua y a las costas. Lo contrario ocurre con los individuos adultos que se encuentran en lugares de menor productividad.
- El Mercurio tuvo una relación con la talla de los individuos. El incremento de Nitrógeno con la longitud de los individuos sustenta la idea de biomagnificación de este metal a lo largo de la cadena trófica.

- El 8% de los individuos muestreados en este estudio presentaron concentraciones de Mercurio por encima de los límites establecidos por la FAO.
- En base a las concentraciones de mercurio encontradas y a los niveles de ingesta sugeridos por la FAO/WHO. Un ecuatoriano promedio (70Kg de masa corporal) debería ingerir semanalmente 222 gramos de atún aleta amarilla para estar dentro del límite libre de efectos de contaminación por Mercurio.

9. Recomendaciones

- Con el objetivo de conocer la estructura de edades de la población de atún aleta amarilla es importante ampliar el número de individuos muestreados.
- Se recomienda realizar análisis de la estructura poblacional del atún aleta amarilla para conocer cómo se encuentra la población y de qué manera a lo largo del tiempo le afectan procesos como la endogamia.
- El presente estudio es un inicio para realizar mayor investigación en el atún aleta amarilla y de esta manera poder establecer planes de manejo de la especie basados en verdaderos datos biológicos de la población.
- Es importante continuar con la evaluación de los niveles de Mercurio en el atún aleta amarilla que es consumido por la población ecuatoriana y determinar sus posibles variaciones a lo largo del tiempo y de qué manera se puede ver afectada la población por el consumo de metales pesados como el Mercurio

10. Referencias

- Aguila, R., S. Perez, B. Catacutan, G. Lopez, N. Barut, and M. Santos. 2015 Distinct Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Stocks Detected in Western and Central Pacific Ocean (WCPO) Using DNA Microsatellites. *Plos One PLoS ONE* 10(9): e0138292.doi:10.1371/journal.pone.0138292:1-14.
- Allendorf, F., P. England, G. Luikart, P. Ritchie, and N. Ryman. 2008. Genetic effects of harvest on wild animal populations. *TRENDS in Ecology & Evolution* **23**:327-337.
- Anderson, M. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* **26**:32-46.
- Anticamara, J., R. Watson, A. Gelchi, and D. Pauly. 2010. Global fishing effort (1950–2010): Trends, gaps, and implications. *Fisheries Research* **107**:131-136.
- Antoni, L., P. Luque, K. Naghshpour, and E. Saillant. 2014. Polymorphic microsatellite markers for the Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Conservation Genetic Resources* **6**:609-611.
- Appleyard, S., P. Grewe, B. Innes, and R. Ward. 2001. Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western Pacific Ocean, inferred from microsatellite loci. *Marine Biology* **139**:383-393.
- Araújo, C., and L. Cedeño-Macias. 2016. Heavy metals in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) landed on the Ecuadorian coast. *Science of the Total Environment* **541**:149-154.
- Arrizabalaga, H., F. Dufour, L. Kell, G. Merino, L. Ibaibarriaga, G. Chust, X. Irigoien, J. Santiago, H. Murua, I. Fraile, M. Chifflet, N. Goikoetxea, Y. Sagarminaga, O. Aumont, L. Bopp, M. Herrera, J. Fromentin, and S. Bonhomeau. 2015. Global habitat preferences of commercially valuable tuna. *Deep-Sea- Research II* **113**:102-112.
- Begg, G., K. Friedland, and J. Pearce. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fisheries Research* **43**:1-8.
- Beldowska, M., and L. Falkowska. 2016. Mercury in marine fish, mammals, seabirds, and human hair in the coastal zone of the southern Baltic. *Water Air Soil Pollut* **227**:1-11.

- Bell, J., J. Johnson, A. Hobday, and (edits). 2011. Vulnerability of Tropical Pacific Fisheries and Aquaculture to Climate Change.
- Block, B., I. Josen, S. Jorgensen, A. Winship, S. Shaffer, S. Bograd, E. Hazen, D. Foley, G. Breed, A. Harrinson, J. Ganong, A. Swithenbank, M. Castleton, H.
- Dewae, B. Mate, G. Shillinger, K. Schaefer, S. Benson, M. Weise, R. Henry, and D. Costa. 2011. Tracking apex marine predator movements in a dynamic ocean. *Nature* **475**:86-90.
- Block, B., and D. Stevens. 2001. *Tuna Physiology, Ecology and Evolution*. Academic Press, San Diego, California.
- Bonito, L., A. Hamdoun, and S. Sandin. 2015. Evaluation of the global impacts of mitigation on persistent, bioaccumulative and toxic pollutants in marine fish. *PeerJ*:1-21.
- Borrell, A., N. Abad-Oliva, E. Gómez-Campos, J. Giménez, and A. Aguilar. 2012. Discrimination of stable isotopes in fin whale tissues and application to diet assessment in cetaceans. *Rapid Communication in Mass Spectrometry* **26**:1596-1602.
- Bosch, A., B. O'Neill, G. Sigge, S. Kerwath, and L. Hoffman. 2015. Heavy metals in marine fish meat and consumer health: a review. *Science Food Agriculture* **96**:32-48.
- Bosch, A., B. O'Neill, G. Sigge, S. Kerwath, and L. Hoffman. 2016. Mercury accumulation in Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) with regards to muscle type, muscle position and fish size. *Food Chemistry* **190**:351-356.
- Cadima, E. 2003. *Manual de evaluación de recursos pesqueros*. FAO.
- Cai, Y., J. Rooker, G. Gill, and J. Turner. 2007. Bioaccumulation of mercury in pelagic fishes from the northern Gulf of Mexico. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* **64**:458-469.
- Carvalho, G., and L. Hauser. 1995. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *in* G. Carvalho and T. Pitcher, editors. *Molecular Genetics in Fisheries*. Chapman & Hall, London.
- Chen, C., A. Amirbahman, N. Fisher, G. Harding, C. Lamborg, D. Nacci, and D. Taylor. 2008. Methylmercury in Marine Ecosystems: Spatial Patterns and Processes of Production, Bioaccumulation, and Biomagnification. *EcoHealth* **5**:399-408.

- Cherel, Y., and K. Hobson. 2007. Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: a tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series* **329**:281-287.
- Cizdziel, J., T. Hinners, and E. Heithmar. 2002. DETERMINATION OF TOTAL MERCURY IN FISH TISSUES USING COMBUSTION ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY WITH GOLD AMALGAMATION. *Water Air Soil Pollut* **135**:355-370.
- Coll, M., L. Shannon, K. Kleisner, M. Juan-Jordá, A. Bundy, A. Akoglu, D. Banaru, J. Boldt, M. Borges, A. Cook, I. Diallo, C. Fu, C. Fox, D. Gascuel, L. Gurney, T. Hattab, J. Heymans, D. Jouffrre, B. Knight, S. Kucukavsar, S. Large, C. Lynam, A. Machias, K. Marshall, H. Masski, H. Ojaveer, C. Piroddi, J. Tam, D. Thiano, M. Thiaw, M. Torres, M. Travers-Trolet, K. Tsagarakis, I. Tuck, G. van der Meeren, D. Yemane, S. Zador, and Y. Shin. 2016. Ecological indicators to capture the effects of fishing on biodiversity and conservation status of marine ecosystems. *Ecological Indicators* **60**:947-962.
- Collette, B., A. Acero, A. F. Amorim, A. Boustany, C. Canales Ramirez, G. Cardenas, K. E. Carpenter, S. K. Chang, d. O. L. Jr., D. N. N., A., D. Die, F. W., F. L. Fredou, J. Graves, A. Guzman-Mora, F. H. Viera Hazin, M. Hinton, M. Juan Jorda, C. Minte Vera, N. Miyabe, R. Montano Cruz, E. Masuti, R. Nelson, H. Oxenford, V. Restrepo, E. Salas, K. Schaefer, J. Schratwieser, R. Serra, C. Sun, Teixeira, R. P. Lessa, P. E. Pires Ferreira Travassos, Y. Uozumi, and E. Yanez. 2011. *Thunnus albacares*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011. IUCN <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T21857A9327139.en>.
- Colman, J., J. Nogueira, O. Pancorbo, C. Batdorf, and B. Block. 2015. Mercury in Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*): bioaccumulation and trans-Pacific Ocean migration. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* **72**:1015-1023.
- Crump, K., and V. Trudeau. 2009. Mercury-Induced reproductive impairment in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry* **28**:895-907.
- Dagorn, L., K. Holland, and D. Itano. 2007. Behavior of yellowfin (*Thunnus albacares*) and bigeye (*T. obesus*) tuna in a network of fish aggregating devices (FADs). *Marine Biology* **151**:595-606.
- Das, K., G. Lepoint, and J. Bouqueneau. 2003. Marine mammals from the southern North Sea: feeding ecology data from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ measurements. *Marine Ecology Progress Series* **263**:287-298.

- Das, K., G. Lepoint, V. Loizeau, V. Debacker, P. Dauby, and M. Bouquegneau. 2000. Tuna and Dolphin Associations in the North-east Atlantic: Evidence of Different Ecological Niches from Stable Isotope and Heavy Metal Measurements. *Marine Pollution Bulletin* **40**:102-109.
- Davenport, S., and N. Bax. 2002. A trophic study of a marine ecosystem off southeastern Australia using stable isotopes of carbon and nitrogen. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* **59**:514-530.
- Dehn, L., E. Follmann, C. Rosa, L. Duffy, D. Thomas, G. Bratton, R. Taylor, and T. O'hara. 2006. Stable isotope and trace element status of subsistence-hunted bowhead and beluga whales in Alaska and gray whales in Chukotka. *Marine Pollution Bulletin* **52**:301-319.
- Díaz, P., and M. Uribe. 2006. Spatial differentiation in the eastern Pacific yellowfin tuna revealed by microsatellite variation. *Fisheries Science* **72**:590-596.
- Discroll, C., R. Mason, H. Chan, D. Jacob, and N. Pirrone. 2013. Mercury as a Global Pollutant: Sources, Pathways, and Effects. *Environmental Science Technology* **47**:4967-4983.
- DPNG, CGREG., FDC., and GC. 2015. Informe Galápagos 2013-2014., Puerto Ayora, Galápagos, Ecuador.
- Earl, D., and B. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetic Resource* **4**:359-361.
- Ely, B., J. Viñas, J. Alvarado, D. Black, L. Lucas, K. Covello, A. Labrie, and E. Thelen. 2005. Consequences of the historical demography on the global population structure of two highly migratory cosmopolitan marine fishes: the yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Evolutionary Biology* **5**:1-9.
- Enríquez-Andrade, R., and J. Vaca-Rodríguez. 2004. Evaluating ecological tradeoffs in fisheries management: a study case for the yellowfin tuna fishery in the Eastern Pacific Ocean. *Ecological Economics* **48**:303-315.
- EPA. 1998. Method 7473 (SW-846): Mercury in Solids and Solutions by Thermal Decomposition, Amalgamation, and Atomic Absorption Spectrophotometry.
- Essington, T., D. Schindler, R. Olson, J. Kitchell, C. Boggs, and R. Hilborn. 2002. Alternative fisheries and the predation rate of yellowfin tuna in the Western Pacific Ocean. *Ecological Applications* **12**:724-734.

- Evanno, G., S. Regnaut, and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**:2611-2620.
- Excoffier, L., and H. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**:564-567.
- FAO. 2014. The state of world fisheries and aquaculture. Food and agriculture organization of the united nations, Roma.
- FAO., and WHO. 2016. Discussion Paper on Maximum Levels For Methylmercury in fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- World Health Organization, Rotterdam, The Netherlands.
- Féral, J. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **268**:121-145.
- Ferguson, A., J. Taggart, P. Prodohl, O. McMeel, C. Thompson, C. Stone, P. McGinnity, and A. Hynes. 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations, with special reference to *Salmo*. *Journal of Fish Biology* **47**:103-126.
- Ferris, B., and T. Essington. 2011. Regional patterns in mercury and selenium concentrations of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the Pacific Ocean. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* **68**:2046-2056.
- Froese, R., and D. Pauly. 2016. www.fishbase.org.
- Fry, B., and E. Sherr. 1989. $\delta^{13}\text{C}$ Measurements as Indicators of Carbon Flow in Marine and Freshwater Ecosystems. Pages 196-229 *in* P. Rundel, J. Ehleringer, and K. Nagy, editors. *Stable Isotopes in Ecological Research*. Springer New York, New York.
- Galland, G., A. Rogers, and A. Nickson. 2016. *Netting Billions: A Global Valuation of Tuna*. The PEW Charitable Trusts, Philadelphia.
- García-Hernández, J., L. Cadena-Cárdenas, M. Betancourt-Lozano, L. García- De la parra, L. García-Rico, and F. Márquez-Farías. 2007. Total mercury content

found in edible tissues of top predator fish from the Gulf of California, Mexico. *Toxicol & Environmental Chemistry* **89**:507-522.

- Graham, B., and K. Dickson. 2001. ANATOMICAL AND PHYSIOLOGICAL SPECIALIZATIONS FOR ENDOTHERMY. *in* B. Block and D. Stevens, editors. Tuna, Physiology, Ecology and Evolution. Academic Press, San Diego, California.
- Graham, B., D. Grubbs, K. Holland, and B. Popp. 2007. A rapid ontogenetic shift in the diet of juvenile yellowfin tuna from Hawaii. *Marine Biology* **150**:647-658.
- Graham, B., P. Koch, D. Newsome, K. McMahon, and D. Aurioles. 2010. Using Isoscapes to Trace the Movements and Foraging Behavior of Top Predators in Oceanic Ecosystems. Pages 299-318 *in* J. West, G. Bowen, T. Dawson, and K. Tu, editors. *Isoscapes*. Springer Netherlands.
- Greenbaum, G., A. Templeton, Y. Zarmi, and S. Bar-David. 2014. Allelic Richness following Population Founding Events – A Stochastic Modeling Framework Incorporating Gene Flow and Genetic Drift. *Plos One* **9**: e115203.
- Grewe, P., P. Feutry, P. Hill, R. Gunasekera, K. Schaefer, D. Itano, D. Fuller, S. Foster, and C. Davies. 2015. Evidence of discrete yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) populations demands rethink of management for this globally important resource. *Scientific Reports* **5**:1-9.
- Gribbble, M., R. Karimi, B. Feingold, J. Nyland, T. O'hara, M. Glaydyshev, and C. Chen. 2016. Mercury, selenium and fish oils in marine food webs and implications for human health. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **96**:43-59.
- Gruber, N. 2016. Elusive marine nitrogen fixation. *PNAS* **113**:4246-4248.
- Guerrero, R., and M. Berlanga. 2010. Isótopos estables: Fundamento y aplicaciones. *Actualidad SEM* **30**:17-23.
- Guynup, S., and C. Safina. 2012. *MERCURY: Sources in the Environment, Health Effects, and Politics*. Blue Ocean Institute.
- Harris, M. 1973. The Galápagos Avifauna *The Condor* **75**:265-278.
- Hauser, L., G. Adcock, P. Smith, J. Bernal - Ramirez, and G. Carvalho. 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). *PNAS* **99**:11742-11747.

- Hellberg, M., R. Burton, J. Neigel, and S. Palumbi. 2002. Genetic assessment of connectivity among marine populations. *Bulletin of Marine Science* **70**:273-290.
- Hoarau, G., E. Boon, D. Jongma, S. Ferber, J. Palsson, H. Van der Veer, A. Rijnsdorp, W. Stam, and J. Olsen. 2005. Low effective population size and evidence for inbreeding in an overexploited flatfish, plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Proceedings of the Royal Society* **272**:497-503.
- Holsinger, K., and B. Weir. 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST. *Nature Reviews* **10**.
- Hooker, S., S. Iverson, P. Ostrom, and S. Smith. 2001. Diet of northern bottlenose whales inferred from fatty-acid and stable-isotope analyses of biopsy samples. *Canadian Journal Zoology* **79**:1442-1454.
- Hoolihan, J., D. Wells, J. Luo, B. Falterman, E. Prince, and J. Rooker. 2014. Vertical and Horizontal Movements of Yellowfin Tuna in the Gulf of Mexico. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science* **6**:211-222.
- Hughes, A., B. Inouye, M. Johnson, N. Underwood, and M. Vellend. 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters* **11**:609-623.
- ISSF. 2016. ISSF Tuna Stock Status Update, 2016: Status of the world fisheries for tuna. International Seafood Sustainability Foundation,, Washington, D.C., USA.
- Jackson, J., M. Kirby, W. Berger, K. Bjorndal, L. Botsford, B. Bourque, R. Bradbury, R. Cooke, J. Erlandson, J. Estes, T. Hughes, S. Kidwell, C. Lange, H. Lenihan, J. Pandolfi, C. Peterson, R. Steneck, M. Tegner, and R. Warner. 2001. Historical Overfishing and the Recent Collapse of Coastal Ecosystems. *Science* **293**:629-638.
- Jinadasa, B., S. Ahmad, E. Edirisinghe, and I. Wicramasinghe. 2014. Mercury Content in Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) and Swordfish (*Xiphias gladius*) and Estimation of Mercury Intake. *Journal of Food Security* **2**:23-26.
- Juan Jorda, M., I. Mosqueira, J. Freire, and K. Dulvy. 2013. The Conservation and Management of Tunas and Their Relatives: Setting Life History Research Priorities. *Plos One* **8**:1-18.
- Juan-Jordá, M., I. Mosqueira, J. Freire, and K. Dulvy. 2015. Population declines of tuna and relatives depend on their speed of life. *The Royal Society Publishing* **282**:1-7.

- Keller, L., and D. Waller. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *TRENDS in Ecology & Evolution* **17**:230-241.
- Kelly, J. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal Zoology* **78**:1-27.
- Kojadinovic, J., M. Potier, M. Le Corre, R. Cosson, and P. Bustamante. 2006. Mercury content in commercial pelagic fish and its risk assessment in the Western Indian Ocean. *Science of the Total Environment* **366**:688-700.
- Kolody, D., J. Eveson, and R. Hillary. 2016. Modelling growth in tuna RFMO stock assessments: Current approaches and challenges. *Fisheries Research* **180**:177-193.
- Kraepiel, A., K. Keller, H. Chin, E. Malcolm, and F. Morel. 2003. Sources and Variations of Mercury in Tuna. *Environmental Science Technology* **37**:5551-5558.
- Kumar, M., B. Aalbersberg, and L. Mosley. 2004. Mercury Levels in Fijian Seafoods and Potential Health Implications. Institute of Applied Sciences, Box 1168, Suva, Fiji Islands, Suva, Fiji Islands.
- Kunal, S., K. G., M. Menezes, and R. Meena. 2013. Mitochondrial DNA analysis reveals three stocks of yellowfin tuna *Thunnus albacares* (Bonnaterre, 1788) in Indian waters. *Conservation Genetic* **14**:205-213.
- Laikre, L., S. Palm, and N. Ryman. 2005. Genetic Population Structure of Fishes: Implications for Coastal Zone Management. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* **34**:111-119.
- Lesage, V., Y. Morin, E. Rioux, C. Pomerleau, S. Ferguson, and E. Pellettier. 2010. Stable isotopes and trace elements as indicators of diet and habitat use in cetaceans: predicting errors related to preservation, lipid extraction, and lipid normalization. *Marine Ecology Progress Series* **419**:249-265.
- MacLeod, C., M. Santos, and G. Pierce. 2003. Review of data on diets of beaked whales: evidence of niche separation and geographic segregation. *Journal Marine Biological Assesment U.K* **83**:651-665.
- Martin, S., L. Ballance, and T. Groves. 2016. An Ecosystem Services Perspective for the Oceanic Eastern Tropical Pacific: Commercial Fisheries, Carbon Storage, Recreational Fishing, and Biodiversity. *Frontiers in Marine Science* **3**:1-19.

- Martínez- Ortiz, J., A. Aires- da Silva, C. Lennert-Cody, and M. Maunder. 2015. The Ecuadorian Artisanal Fishery for Large Pelagics: Species Composition and Spatio- Temporal Dynamics. *Plos One* **10**:1-29.
- McKinney, M., K. Dean, N. Hussey, G. Cliff, S. Wintner, S. Dudley, P. Zungu, and A. Fisk. 2016. Global versus local causes and health implications of high mercury concentrations in sharks from the east coast of South Africa. *Science of the Total Environment* **541**:176-183.
- Ménard, F., A. Lorrain, M. Potier, and F. Marsac. 2007. Isotopic evidence of distinct feeding ecologies and movement patterns in two migratory predators (yellowfin tuna and swordfish) of the western Indian Ocean. *Marine Biology* **153**:141-152.
- Mergler, D., H. Anderson, L. Hing Man Chan, K. Mahaffey, M. Murray, M. Sakamoto, and A. Stern. 2007. Methylmercury Exposure and Health Effects in Humans: A Worldwide Concern. *Ambio* **36**:3-11.
- Miller, K. 2007. Climate variability and tropical tuna: Management challenges for highly migratory fish stocks. *Marine Policy* **31**:56-70.
- Mora, C., R. Myers, M. Coll, S. Librelato, T. Pitcher, R. Sumalia, D. Zeller, R. Watson, K. Gaston, and B. Worm. 2009. Management Effectiveness of the World's Marine Fisheries. *Plos Biology* **7**:11.
- Morel, F., A. Kraepiel, and M. Amyot. 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **29**:543-566.
- Murawski, S. 2000. Definitions of overfishing from an ecosystem perspective. *Journal of Marine Science* **57**:649-658.
- O'Grady, J., B. Brook, D. Reed, J. Ballou, D. Tonkyn, and R. Frankham. 2006. Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild pop. *Biological Conservation* **133**:42-51.
- O'Leary, S., L. Hice, K. Feldheim, M. Frisk, A. McElroy, M. Fast, and D. Chapman. 2013. Severe Inbreeding and Small Effective Number of Breeders in a Formerly Abundant Marine Fish. *Plos One* **8**:1-8.
- Okuda, T., R. Suescum, M. Valencia, and A. Rodriguez. 1983. Variación estacional de la posición del Frente Ecuatorial y su efecto sobre la fertilidad de las aguas superficiales ecuatorianas. *Acta Oceanográfica del Pacífico* **2**:53-84.

- Olson, R., B. Popp, B. Graham, G. López-Ibarra, F. Galván-Magaña, C. Lennert-Cody, N. Bocanegra-Castillo, N. Wallsgrove, E. Gier, V. Alatorre-Ramírez, L. Ballance, and B. Fry. 2010. Food-web inferences of stable isotope spatial patterns in copepods and yellowfin tuna in the pelagic eastern Pacific Ocean. *Progress in Oceanography* **86**:124-138.
- Olson, R., B. Popp, B. Graham, G. López-Ibarra, F. Galván-Magaña, C. Lennert-Cody, N. Bocanegra-Castillo, N. Wallsgrove, E. Gier, V. Alatorre-Ramírez, L. Ballance, and B. Fry. 2010. Food-web inferences of stable isotope spatial patterns in copepods and yellowfin tuna in the pelagic eastern Pacific Ocean. *Progress in Oceanography* **86**:124-138.
- Onsanit, S., M. Chen, C. Ke, and W. Wang. 2012. Mercury and stable isotope signatures in caged marine fish and fish feeds. *Journal of Hazardous Materials* **203-204**:13-21.
- Oriano- Flores, A., F. Galván-Magaña, and R. Rosiles- Martínez. 2011. Bioaccumulation of Mercury in Muscle Tissue of Yellowfin Tuna, *Thunnus albacares*, of the Eastern Pacific Ocean. *Biology Trace Elements Research* **144**:606-620.
- Palumbi, S. 2003. Population Genetics, Demographic Connectivity, and The Design of Marine Reserves. *Ecological Applications* **13**:146-158.
- Pauly, D., J. Alder, E. Bennett, V. Christensen, P. Tyedmers, and R. Watson. 2003. The future for Fisheries. *Science* **302**:1359-1361.
- Pauly, D., and D. Zeller. 2016. Catch reconstructions reveal that global marine fisheries catches are higher than reported and declining. *Nature Communications* **7**:9.
- Percoraro, C., M. Babbucci, A. Villamor, R. Franch, C. Papetti, B. Leroy, S. Ortega, J. Muir, J. Rooker, F. Arocha, H. Murua, I. Zudaire, E. Chassot, N. Bodin, F. Tinti, L. Bargelloni, and A. Cariani. 2016. Methodological assessment of 2b-RAD genotyping technique for population structure inferences in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Marine Genomics* **25**:43-48.
- Perrier, X., and J. Jacquemoud-Collet. 2006. Darwin Software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
- Perugini, M., P. Visciano, M. Manera, A. Zaccaroni, V. Oliveri, and M. Amorena. 2009. Levels of Total Mercury in Marine Organisms from Adriatic Sea, Italy. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology* **83**:244-248.

- Pesqueros, S. d. R. 2016. Censo Pesquero. Ecuador.
- Pethybridge, H., J. Young, P. Kuhnert, and J. Farley. 2015. Using stable isotopes of albacore tuna and predictive models to characterize bioregions and examine ecological change in the SW Pacific Ocean. *Progress in Oceanography* **134**:293-303.
- Popp, B., B. Graham, D. Olson, C. Hannides, M. Lott, G. López-Ibarra, F. Galván-Magaña, and B. Fry. 2007. Specific Nitrogen Isotope Analysis of Proteinaceous Amino Acids. *in* T. Dawson and R. Siegwolf, editors. *Stable Isotopes as Indicators of Ecological Change*. Elsevier.
- Post, D. 2002. USING STABLE ISOTOPES TO ESTIMATE TROPHIC POSITION: MODELS, METHODS, AND ASSUMPTIONS. *Ecology* **83**:703-718.
- Post, D., C. Layman, D. Arrington, G. Takimoto, J. Quattrochi, and C. Montaña. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* **152**:179-189.
- Pritchard, J., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* **155**:945-959.
- Químicos, P. P. 2005. Evaluación mundial sobre el mercurio. Programa de las Naciones Unidas para el medio ambiente, Ginebra, Suiza.
- Rafter, P., and D. Sigman. 2016. Spatial distribution and temporal variation of nitrate nitrogen and oxygen isotopes in the upper equatorial Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* **61**:14-31.
- Reiss, H., G. Hoarau, M. Dickey-Collas, and W. Wolff. 2009. Genetic population structure of marine fish: mismatch between biological and fisheries management units. *Fish and Fisheries* **10**:361-395.
- Riccioni, G., M. Landi, G. Ferrara, I. Milano, A. Cariani, L. Zane, M. Sella, G. Barbujani, and F. Tinti. 2010. Spatio-temporal population structuring and genetic diversity retention in depleted Atlantic Bluefin tuna of the Mediterranean Sea. *PNAS* **107**:2102-2107.
- Richert, J., F. Galván-Magaña, and P. Klimley. 2015. Interpreting nitrogen stable isotopes in the study of migratory fishes in marine ecosystems. *Marine Biology* **162**:1099-1110.
- Sardenne, F., F. Ménard, M. Degroote, E. Fouché, G. Guillou, B. Lebreton, S. Hollanda, and N. Bodin. 2015. Methods of lipid-normalization for multi-

tissue stable isotope analyses in tropical tuna. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*.

- Schaefer, K., D. Fuller, and G. Aldana. 2014. Movements, behavior, and habitat utilization of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in waters surrounding the Revillagigedo Islands Archipelago Biosphere Reserve, Mexico. *Fisheries Oceanography* **23**:65-82.
- Schaefer, K., D. Fuller, and B. Block. 2007. Movements, behavior, and habitat utilization of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the northeastern Pacific Ocean, ascertained through archival tag data. *Marine Biology* **152**:503-525.
- Schaefer, K., D. Fuller, and B. Block. 2011. Movements, behavior, and habitat utilization of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Pacific Ocean off Baja California, Mexico, determined from archival tag data analyses, including unscented Kalman filtering. *Fisheries Research* **112**:22-37.
- Scheuhammer, A., M. Meyer, M. Sandheinrich, and M. Murray. 2007. Effects of Environmental Methylmercury on the Health of Wild Birds, Mammals, and Fish. *Ambio* **36**:12-18.
- Schiller, L., J. Alava, J. Grove, G. Reck, and D. Pauly. 2014. The demise of Darwin's fishes: evidence of fishing down and illegal shark finning in the Galápagos Islands. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **Online**:1-16.
- Schmidt, L., C. Bizzi, F. Duarte, V. Dressler, and E. Flores. 2013. Evaluation of drying conditions of fish tissues for inorganic mercury and methylmercury speciation analysis. *Microchemical Journal* **108**:53-59.
- Sharp, G. 2001. TUNA OCEANOGRAPHY AND APPLIED SCIENCE. *in* B. Block and D. Stevens, editors. *Tuna, Physiology, Ecology and Evolution*, San Diego, California.
- Sibert, J., and J. Hampton. 2003. Mobility of tropical tunas and the implications for fisheries management. *Marine Policy* **27**:87-95.
- Sibert, J., J. Hampton, P. Kleiber, and M. Maunder. 2006. Biomass, Size, and Trophic Status of Top Predators in the Pacific Ocean. *Science* **314**:1773-1776.
- Siskey, M., M. Wilberg, R. Allman, B. Barnett, and D. Secor. 2016. Forty years of fishing: changes in age structure and stock mixing in northwestern Atlantic

bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) associated with size-selective and long-term exploitation. *ICES Journal of Marine Science*.

Skinner, M., A. Martin, and B. Moore. 2015. Is lipid correction necessary in the stable isotope analysis of fish tissues? *Rapid Communication in Mass Spectrometry* **30**:881-889.

Smith, P., R. Francis, and M. McVeagh. 1991. Loss of genetic diversity due to fishing pressure. *Fisheries Research* **10**:309-316.

Svensson, E., S. Schouten, E. Hopmans, J. Middelburg, and J. Sinninghe. 2015. Factors Controlling the Stable Nitrogen Isotopic Composition ($\delta^{15}\text{N}$) of Lipids in Marine Animals. *Plos One* **11**:1-12.

Tchounwou, P., C. Yedjou, A. Patlolla, and D. Sutton. 2012. Heavy Metal Toxicity and the Environment. Pages 133-164 *in* A. Lush, editor. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. Springer Basel, USA.

Teffer, A., M. Staudinger, D. Taylor, and F. Juanes. 2014. Trophic influences on mercury accumulation in top pelagic predators from offshore New England waters of the northwest Atlantic Ocean. *Marine Environmental Research* **101**:124-134.

Templeton, A., and B. Read. 1984. Inbreeding: One word, several meanings, much confusion. Pages 91-105 *in* V. Loeschcke, S. Jain, and J. Tomiuk, editors. *Conservation Genetics*. Birkhäuser Basel.

Tropical, C. I. d. A. 2016. LOS ATUNES, PECES PICUDOS, Y OTROS PECES PELÁGICOS EN EL OCEANO PACÍFICO ORIENTAL EN 2014. Comisión Interamericana del Atún Tropical. La Jolla, California (USA).

Vázquez, A., and A. Morales. 2013. Microsatélites. *in* L. Márquez - Valdelamar, M. Serrato - Diaz, and R. Cerritos - Flores, editors. *Herramientas moleculares aplicadas a la ecología, México*.

Walker, J., and S. Macko. 1999. DIETARY STUDIES OF MARINE MAMMALS USING STABLE CARBON AND NITROGEN ISOTOPIC RATIOS OF TEETH. *Marine Mammal Science* **15**:314-334.

Ward, R. 2000. Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia* **420**:191-201.

Ward, R., N. Elliott, P. Grewe, and A. Smolenski. 1994. Allozyme and mitochondrial DNA variation in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the Pacific Ocean. *Marine Biology* **118**:531-539.

- Watras, C., and N. Bloom. 1992. Mercury and methylmercury in individual zooplankton. Implications for bioaccumulation. *Limnology Oceanography* **37**:1313-1318.
- West, J., G. Bowen, T. Cerling, and J. Ehleringer. 2006. Stable isotopes as one of nature's ecological recorders. *TRENDS in Ecology and Evolution* **21**:1-7.
- Wild, A. 1986. Growth of Yellowfin Tuna, *Thunnus albacares*, in the Eastern Pacific Ocean Based on Otolith Increments. INTER-AMERICAN TROPICAL TUNA COMMISSION, La Jolla, California.
- Worm, B., E. Barbier, N. Beaumont, E. Duffy, C. Folke, B. Halpern, J. Jackson, H. Lotze, F. Micheli, S. Palumbi, E. Sala, K. Selkoe, J. Stachowicz, and R. Watson. 2006. Impacts of Biodiversity Loss on Ocean Ecosystem Services. *Science* **314**:787-791.
- Wu, C., H. Chiang, Y. Chou, Z. Wong, C. Hsu, C. Chen, and H. Yang. 2010. Phylogeography of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Western Pacific and the Western Indian Oceans inferred from mitochondrial DNA. *Fisheries Research* **105**:248-253.
- Young, J., B. Hunt, T. Cook, J. Llopiz, E. Hazen, H. Pethybridge, D. Ceccarelli, A. Lorrain, R. Olson, V. Allain, C. Menkes, T. Patterson, S. Nicol, P. Lehodey, R. Kloser, H. Arrizabalaga, and A. Choy. 2015. The trophodynamics of marine top predators: Current knowledge, recent advances and challenges. *Deep-Sea- Research II* **113**:170-187.
- Zeller, D., S. Harper, K. Zylich, and D. Pauly. 2015. Synthesis of underreported small-scale fisheries catch in Pacific island waters. *Coral Reefs* **34**:25-39.
- Zudaire, I., H. Murua, M. Grande, N. Goñi, M. Potier, F. Ménard, E. Chassot, and N. Bodin. 2015. Variations in the diet and stable isotope ratios during the ovarian development of female yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Western Indian Ocean. *Marine Biology* **162**:2363-2377.

11. Tablas

Tabla 1. Primers seleccionados utilizados en la reacción PCR para la amplificación de 12 marcadores microsatélites de atún aleta amarilla *Thunnus albacares*.

Locus	Primer Forward (5'-3')	Primer Reverse (5'-3')	T°A	Autor
cmrTa-144	TCCTCATTTAGAAAGCCACTGTA (6-FAM)	ACCTGTTGATTATTGCTTTTATGT	59.7	Appleyard et al. 2001
YT 84	TACTTACTGCCGCTACTGG (HEX)	AAGTTGGAACCAGAGAACCATT	62.3	Antoni et al. 2014
YT 95	CATACGATTGGCTGCTGAAC (HEX)	CCGTCGTCTTTCGCTCTATC	62.6	
YT 12	GAGATGTGGCTTCCTCCAAA (6-FAM)	GCGGATTTATGGCATCAGTT	61.8	
YT 24	GCTCGAGCAGTTTCCAGTAG (6-FAM)	TGATCCACTACTCACAGTCAG	60.8	
YT 60	TGTGCTGTGATGTCACCTTGT (HEX)	CCCGCCTACAGATCCCTAAT	64.1	
YT 87	CGAGATACGCGAAGGACAA (HEX)	CAGTGGCATTCTTGGCAATAG	61.6	
YT 94	TCCATGGAGTTCCTCTGAC (HEX)	GACATTAGTGCCTGGAGCTGA	63.2	
YT 121	GAAGGCTCTTCAGCTGGTTG (FAM)	AGTTGTGGCACGATTGTCTG	63.9	
YT 101	ACCAGTTCAGGCCTCTGATG (FAM)	CCACTAACTTGCTGGCATGA	62.7	
YT 103	CCGAGTCTGACCGTTAATGC (6-FAM)	GCAGTTGTGATCACCGATTTT	62.4	
YT 111	CGTCCAGTAGTGACGAGGAT (HEX)	GACTGTATCTGCTGAAACAAA	60.7	

T°A= temperatura de annealing

Tabla 2. Medidas de diversidad genética de 11 loci microsatélites evaluados en dos poblaciones de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*)

Población	Medidas de diversidad genética	Loci microsatélites										
		YT84	YT95	YT12	YT24	YT60	YT121	YT87	YT94	YT101	YT103	YT111
Galápagos	N	78	78	76	77	77	78	78	78	78	78	78
	Na	20	16	28	20	19	26	24	11	31	28	30
	Ra	14.94	14.39	22.66	18.28	18.21	21.34	18.41	10.76	25.71	22.81	25.06
	Rango tamaño de alelos	209-309	85-111	315-366	147-188	176-216	149-209	263-304	93-117	288-338	73-137	156-220
	Ho	0.8816	0.7895	0.5263	0.6579	0.9079	0.8462	0.6795	0.7692	0.6154	0.8590	0.8718
	He	0.9121	0.8810	0.9412	0.9265	0.9268	0.9393	0.7347	0.8397	0.9426	0.9420	0.9417
	pHW	0.8671	0.0010	0.0000	0.0000	0.0702	0.0027	0.1398	0.0001	0.0000	0.0048	0.0196
Continente	N	34	34	33	34	34	34	34	34	34	34	34
	Na	20	14	23	18	18	20	17	8	21	23	24
	Ra	16.42	14.04	23.38	18.38	18.25	20.78	17.90	10.23	23.75	23.81	25.03
	Rango tamaño de alelos	213-305	89-111	318-362	149-188	176-216	149-196	267-304	93-107	288-325	77-137	160-220
	Ho	0.8529	0.6765	0.3939	0.5294	0.8235	0.7059	0.6765	0.8824	0.6176	0.9706	0.9118
	He	0.9183	0.8382	0.9141	0.9035	0.9187	0.9334	0.7565	0.8157	0.9239	0.9433	0.9403
	pHW	0.0200	0.0072	0.0000	0.0000	0.0344	0.0008	0.0262	0.3292	0.0000	0.8857	0.3126

N= número de individuos muestreados, Na= número de alelos por locus, Ra= riqueza alélica (promedio de alelos por locus), Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada, pHW= probabilidad de equilibrio de Hardy-Weinberg

Tabla 3. Índice de endogamia (Fis) de 11 loci microsatélites evaluado en individuos de atún aleta amarilla

Índice	Loci microsatélites										
	YT84	YT95	YT12	YT24	YT60	YT121	YT87	YT94	YT101	YT103	YT111
Fis	0.0398	0.1322	0.4835	0.3356	0.0532	0.1581	0.0945	0.0397	0.3131	0.065	0.0737

Fis= Índice de endogamia

Tabla 4. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de los individuos de atún aleta amarilla colectados en la RMG y el continente ecuatoriano.

AMOVA			
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	4.953	0	0%
Entre individuos	629.483	0.84155	17%
Dentro individuos	453.000	4.147	83.28%

Tabla 5. Estadística descriptiva de 4 variables de respuesta medidas en individuos de atún aleta amarilla colectados en la RMG y el continente ecuatoriano

Variables	Época Fría	Época Caliente	Época Fría	Época Caliente
Talla (cm)	$\bar{X}=79,45 (1,47)$	$\bar{X}=98,33 (2,38)$	$\bar{X}=67,04 (5,82)$	$\bar{X}= 60,55 (0,67)$
	M = 75,34 (78,11)	M = 93 (125)	M = 53 (166)	M = 62 (24)
	Rango = 52,50 -130,61	Rango = 46 - 171	Rango = 34 - 200	Rango = 43 - 67
¹³C (‰)	$\bar{X}= -17,47 (0,09)$	$\bar{X}= -17,72 (0,03)$	$\bar{X}= -15,53 (0,17)$	$\bar{X}= -14,59 (0,25)$
	M = -17,60 (10,39)	M = -17,72 (2,46)	M = -15,28 (5,65)	M = -14,05 (11,79)
	Rango = -18,19- -7,81	Rango = -18,52- -16,06	Rango = -19,37- -13,71	Rango = -17,78- -5,99
¹⁵N (‰)	$\bar{X}=10,32 (0,11)$	$\bar{X}= 11,43 (0,05)$	$\bar{X}= 10,89 (0,20)$	$\bar{X}= 11,85 (0,99)$
	M = 10,29 (11,48)	M = 11,43 (5,51)	M = 10,95 (6,14)	M= 11,84 (3,72)
	Rango = 1,52-12,99	Rango = 8,65 - 14,16	Rango = 8,29 - 14,44	Rango = 10,07 - 13,79
Hg (‰) peso seco	$\bar{X}=1,37 (0,03)$	$\bar{X}=2,11 (0,17)$	$\bar{X}= 1,60 (0,35)$	$\bar{X}= 0,71 (0,06)$
	M = 1,36 (1,96)	M = 1,72 (20,01)	M = 0,65 (8,95)	M= 0,58 (2,88)
	Rango = 0,27-2,23	Rango = 0,45 - 20,46	Rango = 0,47 - 9,42	Rango = 0,21 - 3,09
Hg (‰) peso húmedo	$\bar{X}=0,41 (0,01)$	$\bar{X}= 0,63 (0,05)$	$\bar{X}= 0,48 (0,10)$	$\bar{X}= 0,21 (0,02)$
	M = 0,41 (0,59)	M = 0,52 (0,60)	M = 0,19 (2,69)	M= 0,17 (0,87)
	Rango = 0,08 - 0,67	Rango = 0,13 - 6,14	Rango = 0,14 - 2,82	Rango = 0,063 - 0,93

\bar{X} : Media (desviación estándar), M: mediana (rango intercuartil), Rango: valor mínimo – valor máximo.

Tabla 6. Tabla comparativa de concentraciones por mercurio en peso húmedo encontradas en atún aleta amarilla en diferentes regiones.

Fuente bibliográfica	Especie	Media	Máxima concentración encontrada	Minima concentración encontrada
Matthews 1983	<i>Thunnus albacares</i>		0.368 ppm peso húmedo	0.086 ppm peso húmedo
Adams 2004	<i>Thunnus albacares</i>	0.25 SD: 0.12 ppm peso húmedo		
Kumar et al. 2004	<i>Thunnus albacares</i>	0.11 SD: 0.11 ppm peso húmedo	0.40 ppm peso húmedo	0.02 ppm peso húmedo
Kojadinovic et al. 2006	<i>Thunnus albacares</i>			
Cai et al.	<i>Thunnus albacares</i>	0.18 SD: 0.15 ppm peso húmedo	0.87 ppm peso húmedo	0.07 ppm peso húmedo
García- Hernández et al. 2007	<i>Thunnus albacares</i>	0.03 SD: 0.06 ppm peso húmedo	0.23 ppm peso húmedo	
Ferris and Essington 2011	<i>Thunnus albacares</i>		0.7 ppm ppm peso húmedo	0.03 ppm ppm peso húmedo
Ordiano-Flores et al. 2011	<i>Thunnus albacares</i>	0.98 SD: 0.68 ppm peso seco		
Ruelas-Inzunza et al. 2011	<i>Thunnus albacares</i>	0.20 SD: 0.17 ppm peso húmedo		
Jinadasa et al. 2014	<i>Thunnus albacares</i>	0.30 ppm peso húmedo	0.98 ppm peso húmedo	
Teffer et al. 2015	<i>Thunnus albacares</i>	0.304 SD: 0.087 ppm peso húmedo	0.503 ppm peso húmedo	0.044 ppm peso húmedo
Araújo and Cedeño 2016	<i>Thunnus albacares</i>	1.4 SD: 0.24 ppm peso húmedo	6 ppm peso húmedo	0.005 ppm peso húmedo
Presente estudio	<i>Thunnus albacares</i>	0.0505 SD: 0.512 ppm peso húmedo	6.81 ppm peso húmedo	0.0703 ppm peso húmedo

12. Figuras

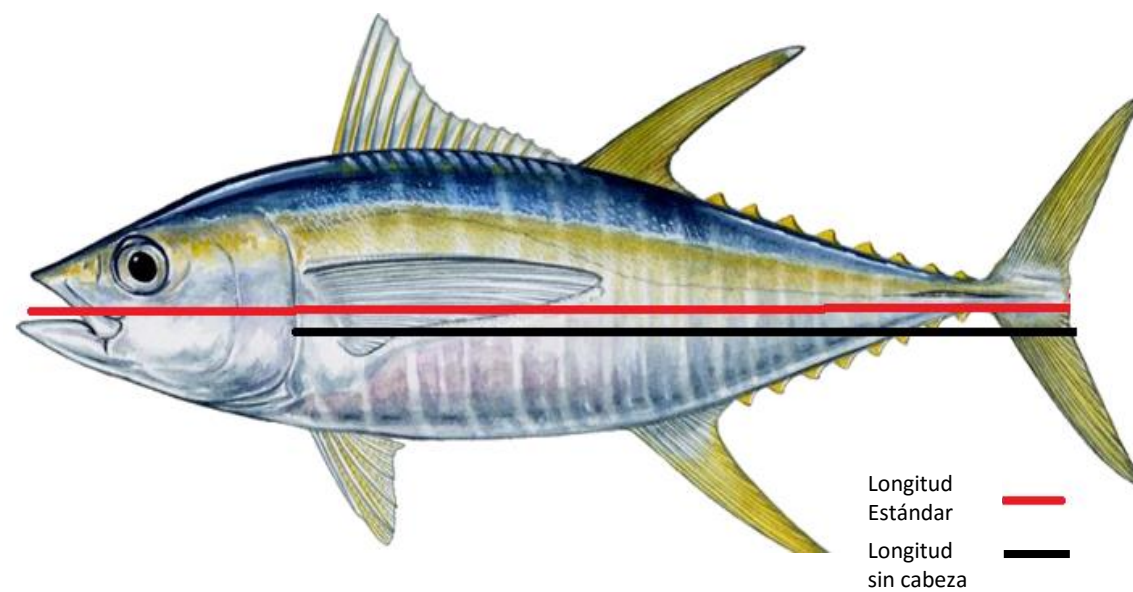


Figura 1. Medida estándar (Fork length) tomada de cada individuo.

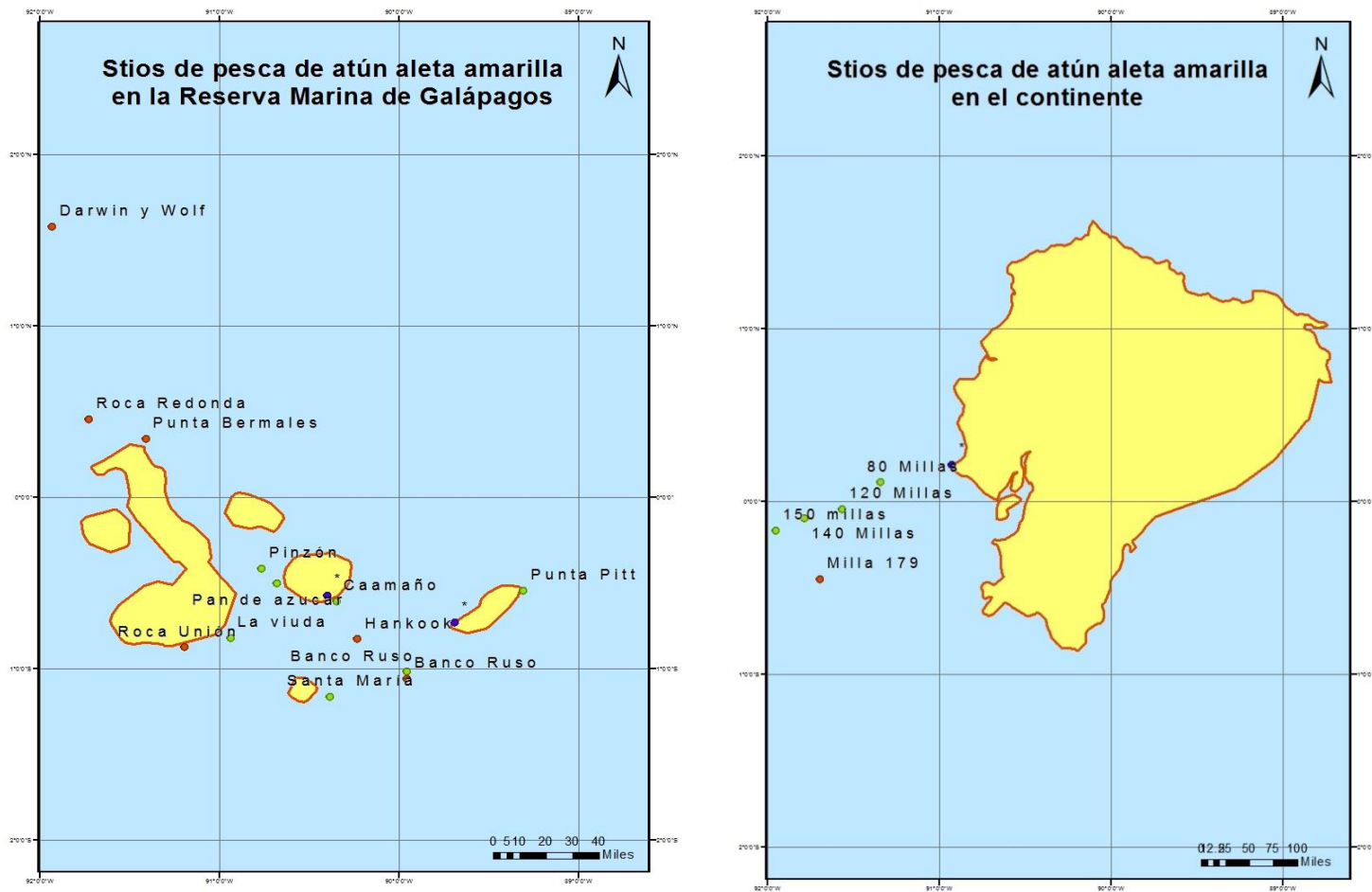


Figura 2. Sitios de pesca de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*). En la imagen de la izquierda los puntos corresponden a la RMG y en la imagen de la derecha los puntos corresponden al continente ecuatoriano

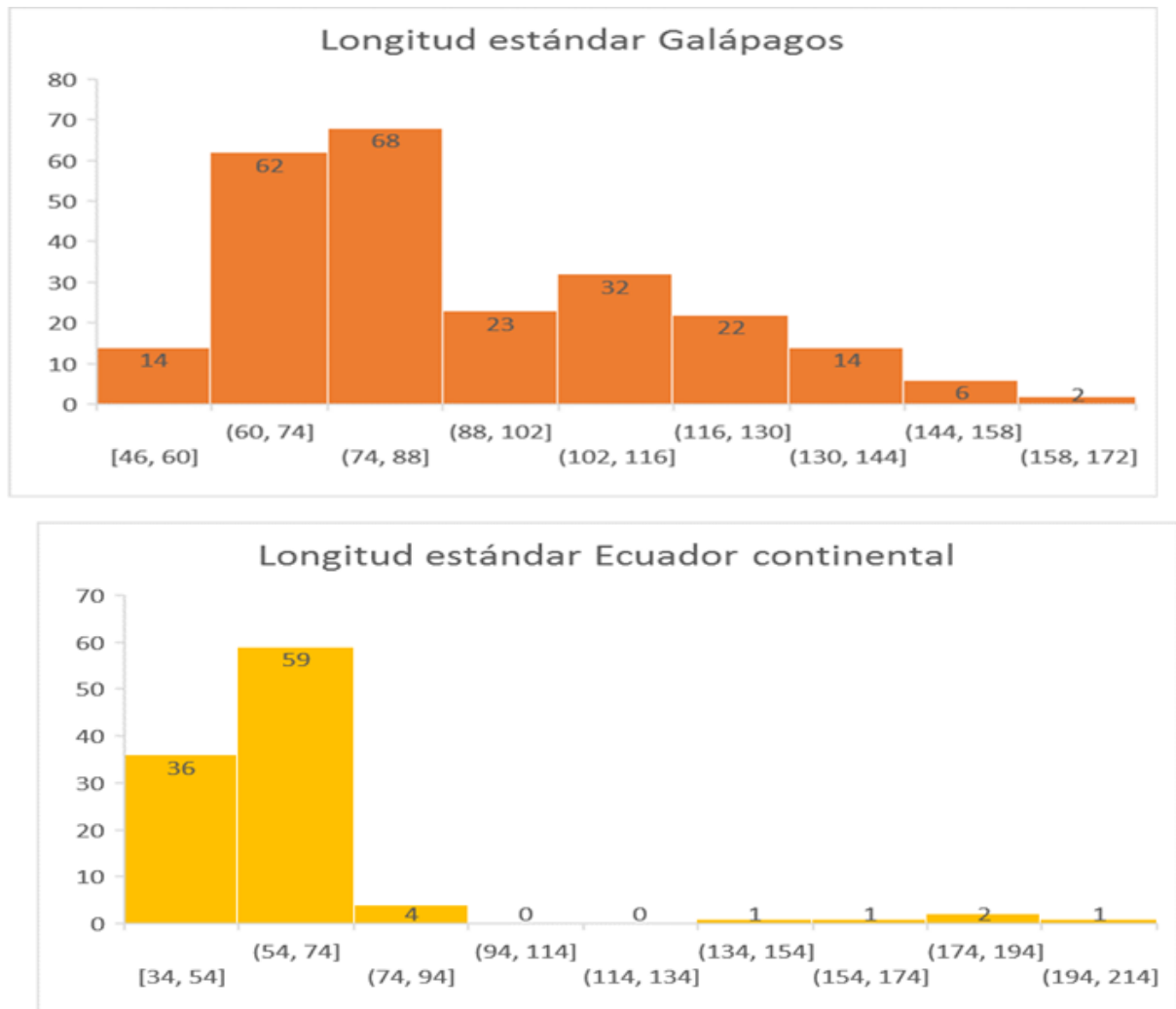


Figura 3. Distribución de las medidas estándar (fork length) de los individuos de atún aleta amarilla muestreados en la RMG (parte superior) y el continente ecuatoriano (parte inferior). La línea negra indica la separación entre temporadas (línea negra a la derecha corresponde a la temporada seca, línea negra a la izquierda corresponde temporada húmeda).

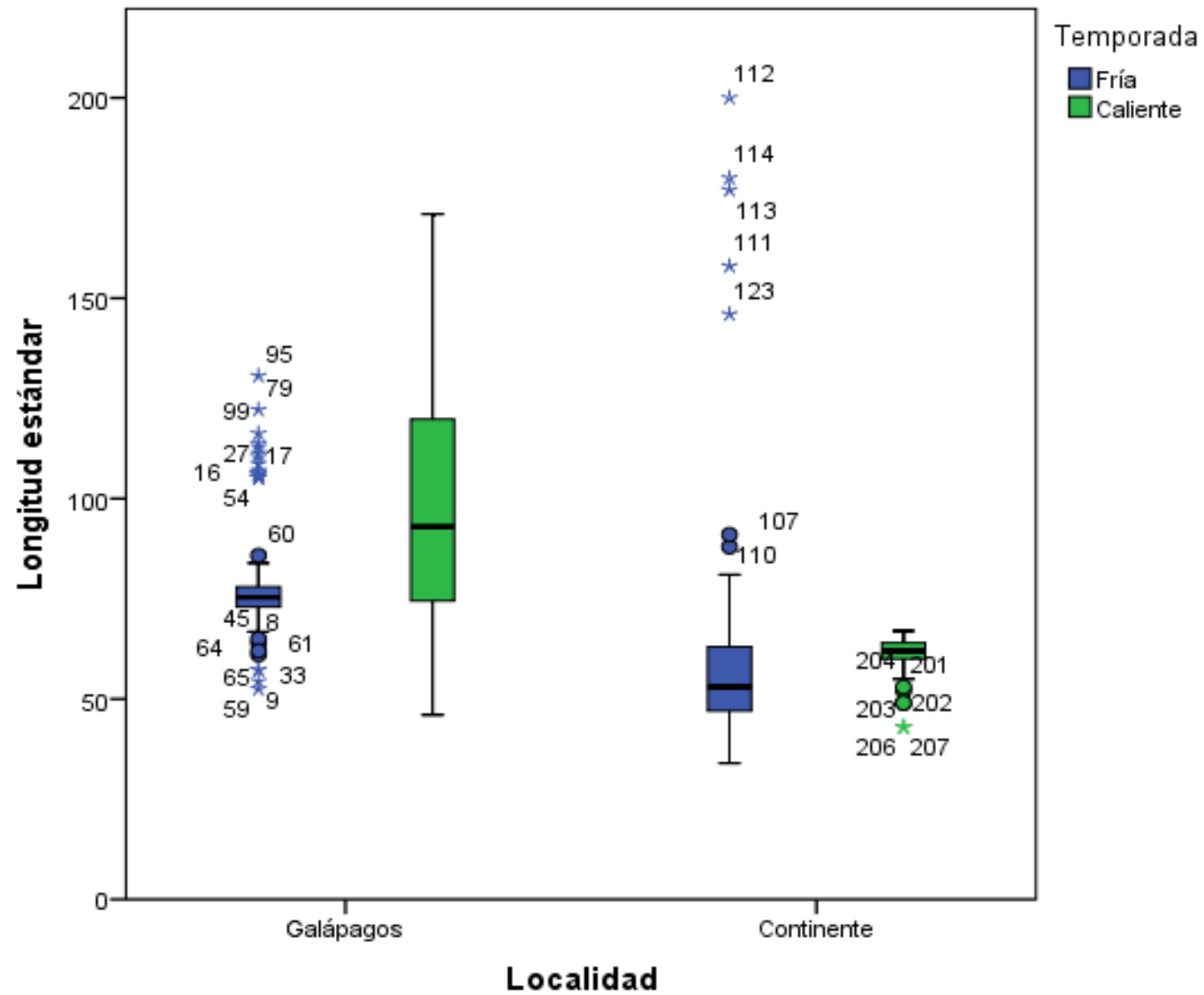


Figura 4. Diagrama de caja y bigote que representa la variación de medida estándar (fork length) de 347 individuos de atún aleta amarilla entre dos temporadas y dos regiones geográficas.

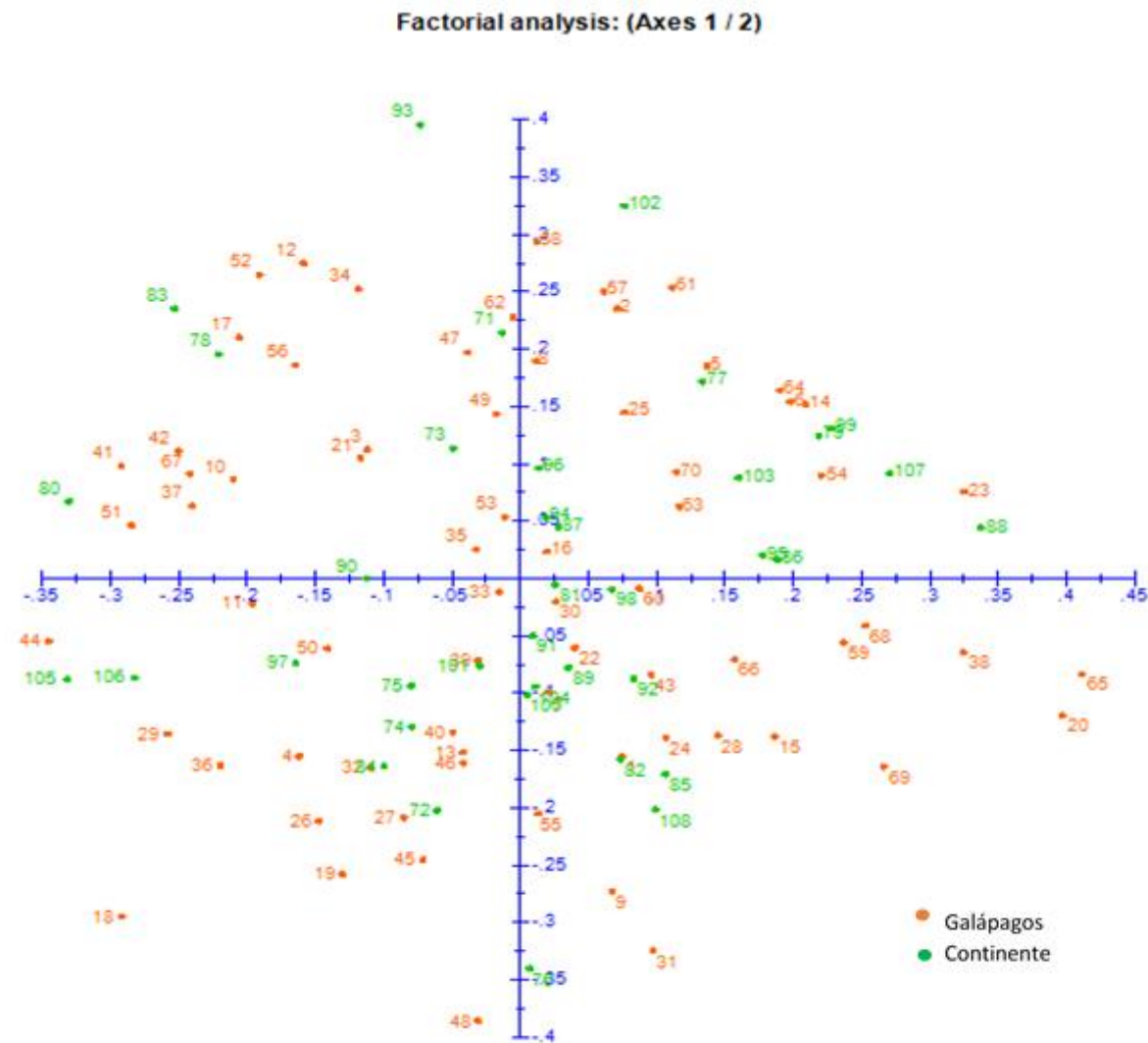


Figura 5. Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) usando 6 loci microsatélites en dos poblaciones de atún aleta amarilla.

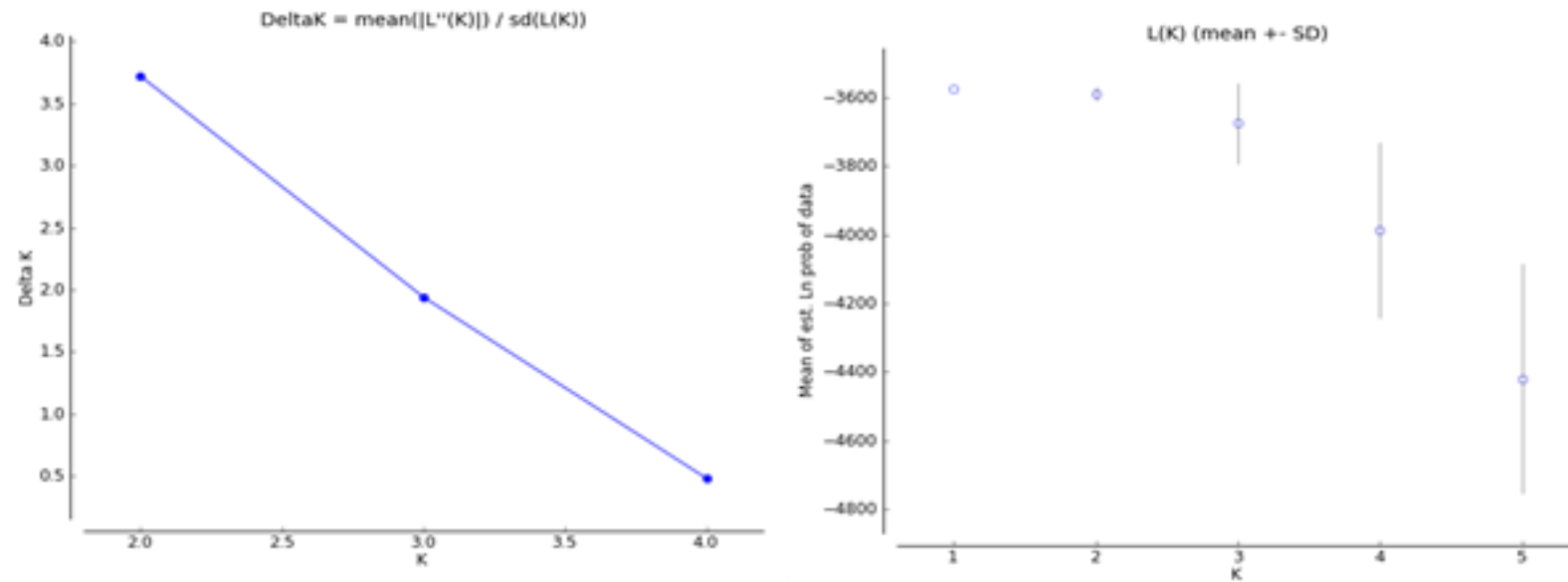


Figura 6. Delta K y media de probabilidad de logaritmo natural estimada por STRUCTURE en muestras de atún aleta amarilla usando valores de K=1 a K=5

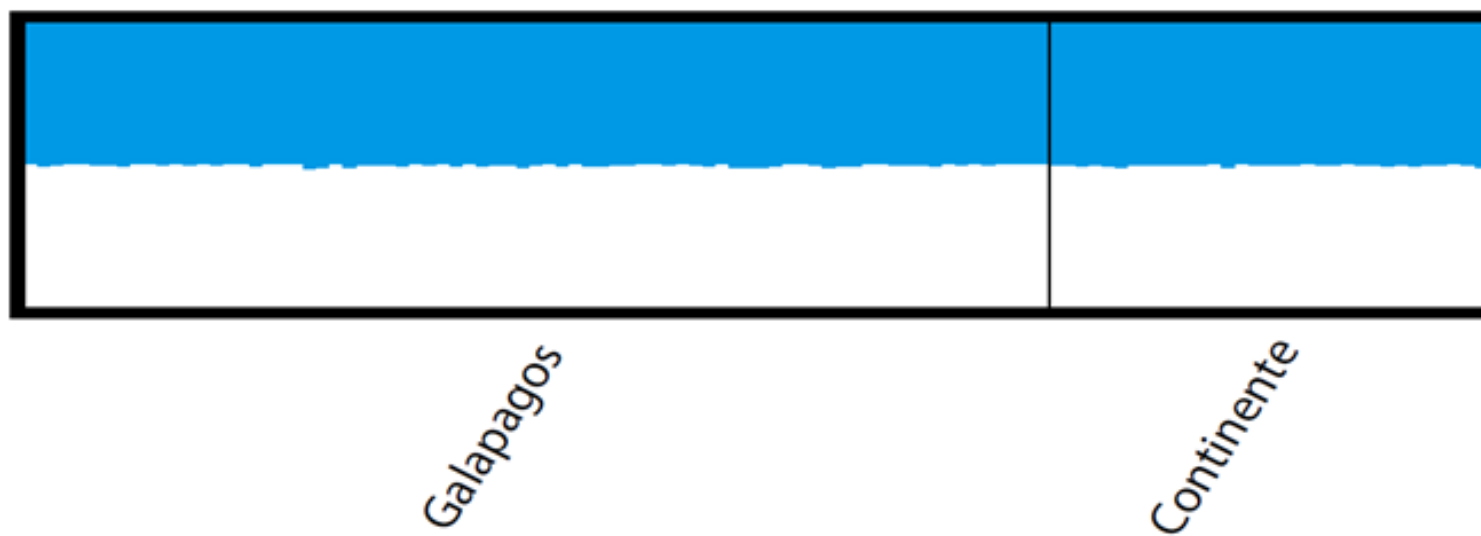


Figura 7. Clúster consenso obtenido basado en datos multilocus de 6 loci microsátélites evaluados en dos poblaciones de atún aleta amarilla.

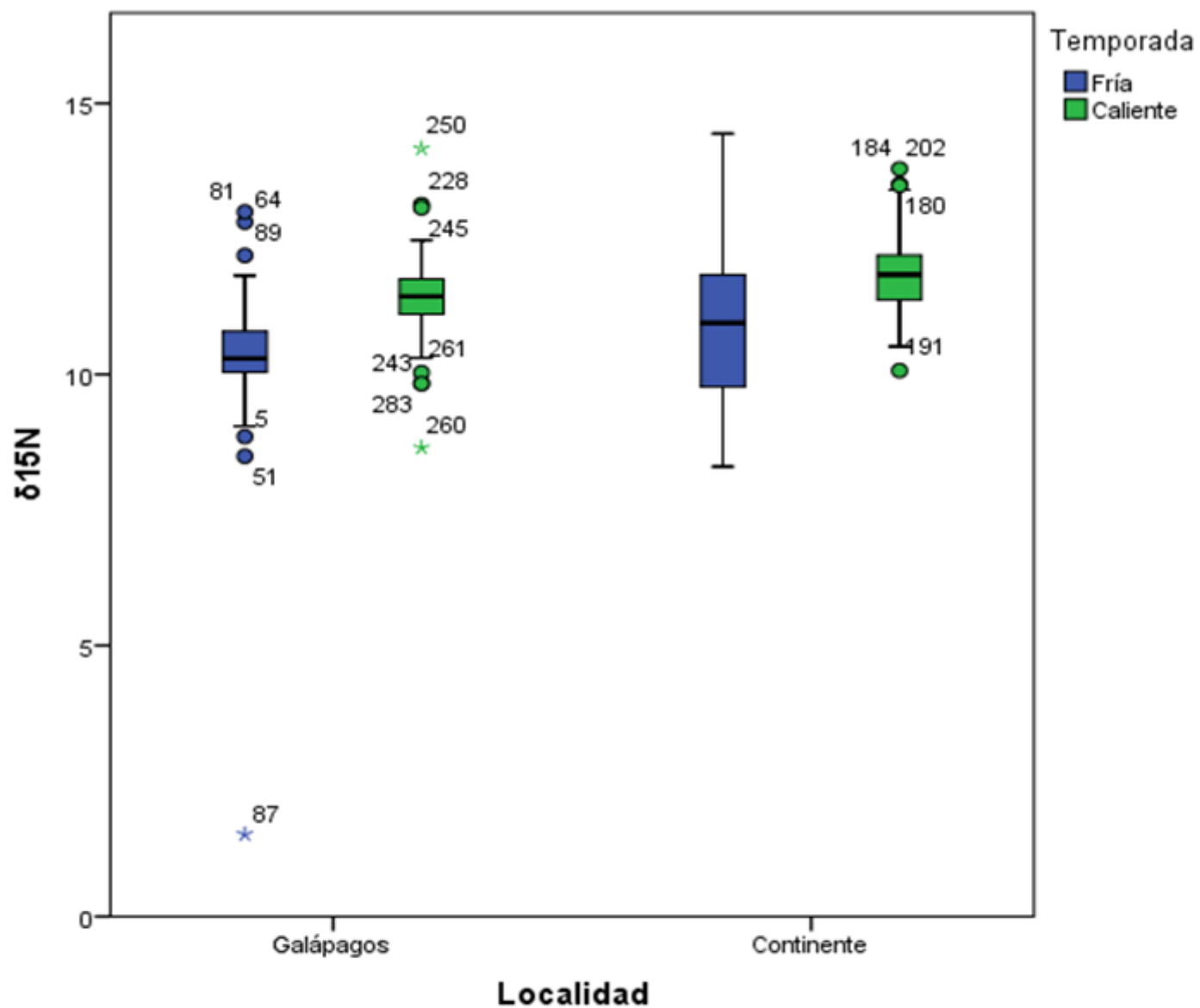


Figura 8. Diagrama de caja y bigote que representa la variación de las concentraciones de nitrógeno de 347 individuos de atún aleta amarilla entre dos temporadas y dos regiones geográficas.

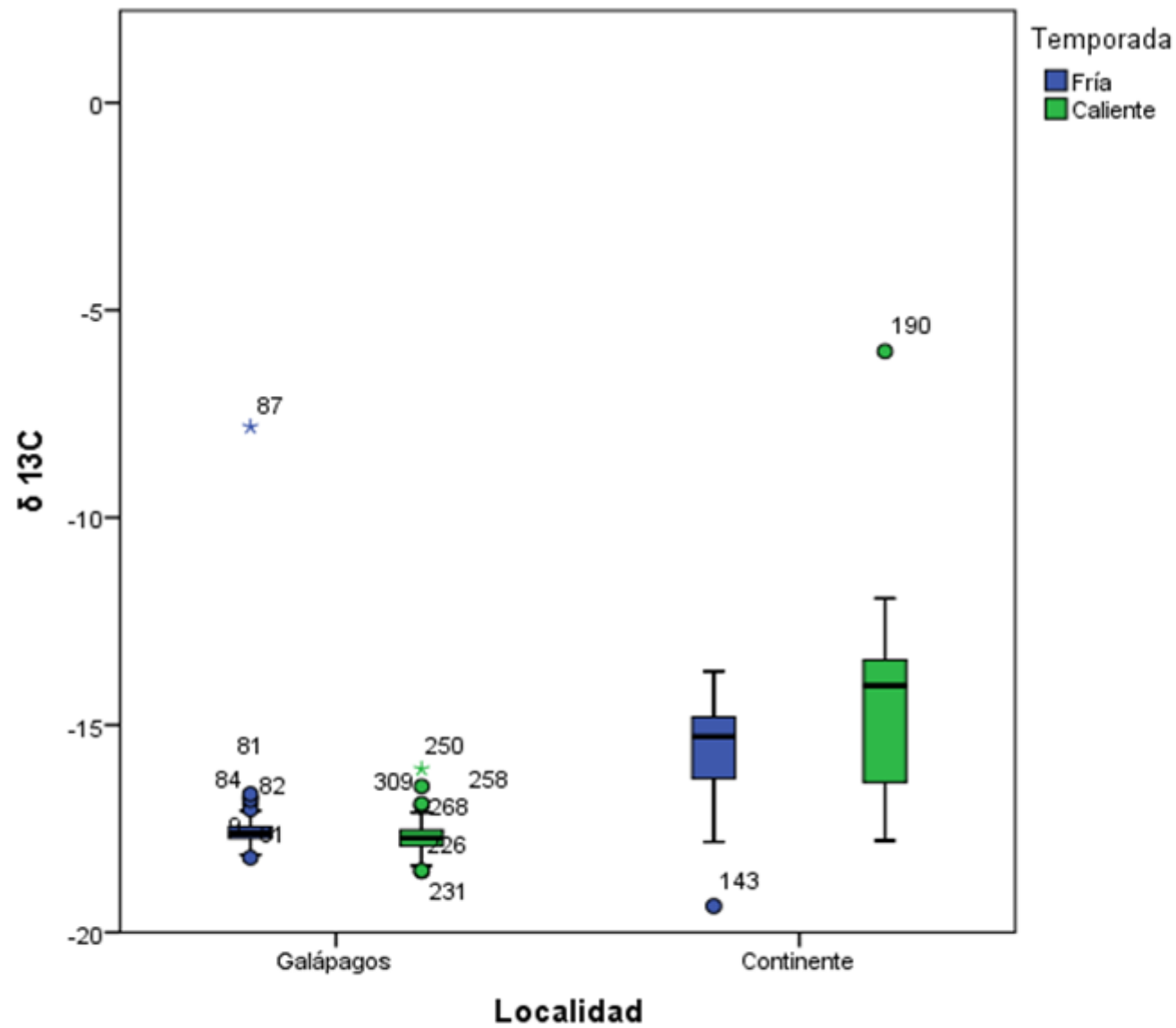


Figura 9. Diagrama de caja y bigote que representa la variación de las concentraciones de carbono de 347 individuos de atún aleta amarilla entre dos temporadas y dos regiones geográficas.

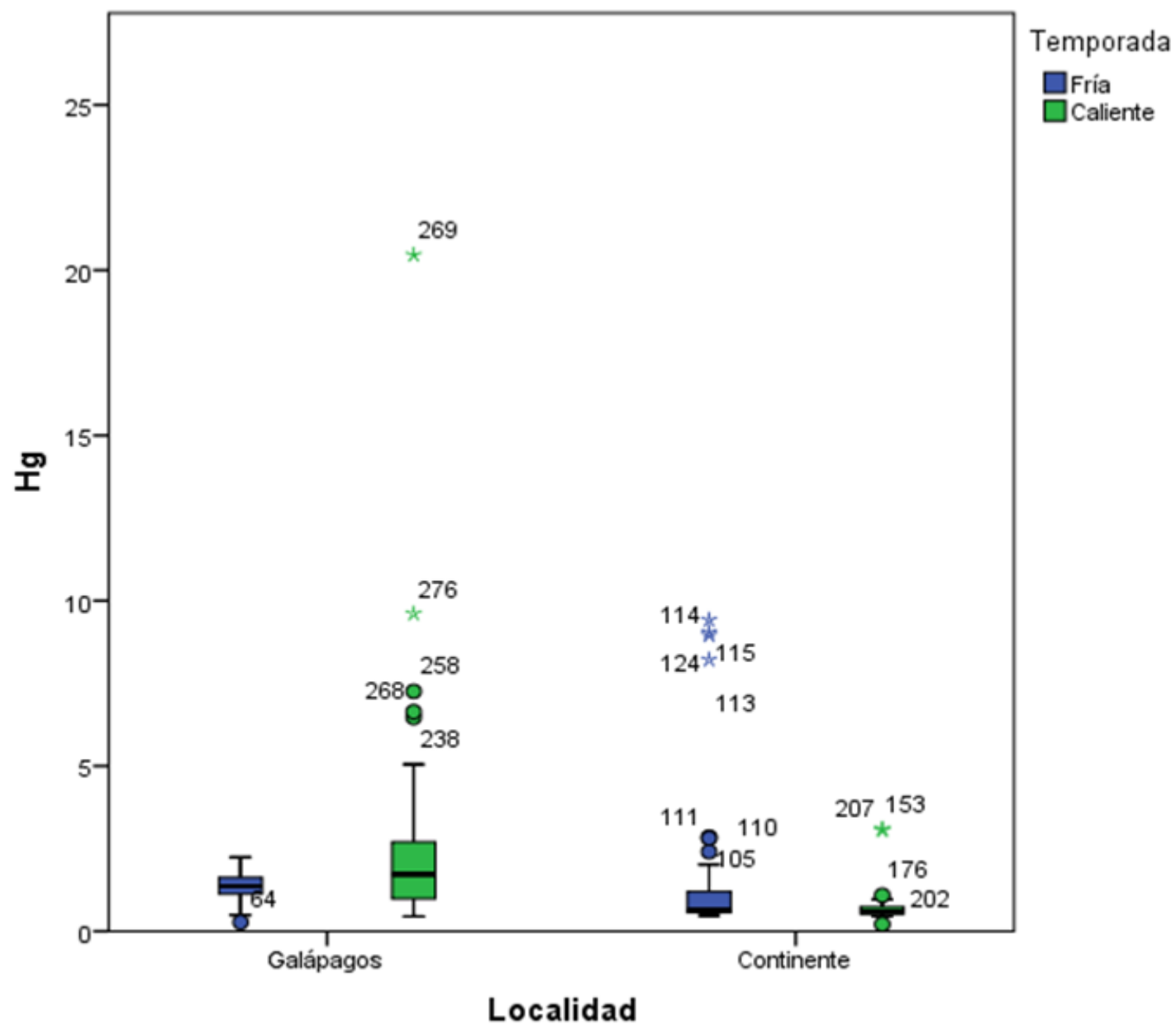


Figura 10. Diagrama de caja y bigote que representa la variación de las concentraciones de mercurio de 347 individuos de atún aleta amarilla durante dos temporadas (izquierda) y dentro de dos localidades (derecha).

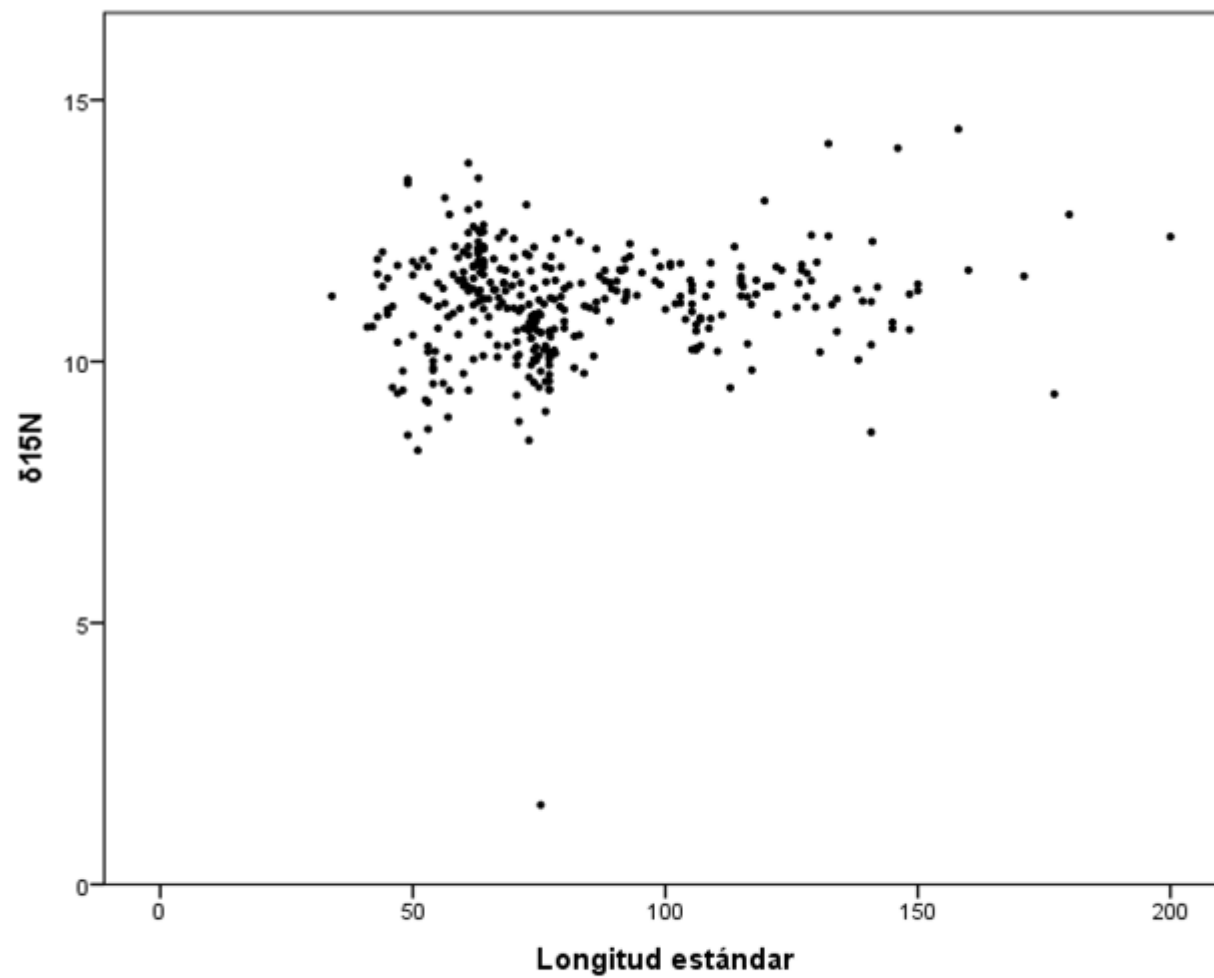


Figura 11. Relación entre las concentraciones de Nitrógeno y la longitud estándar medidas en individuos de atún aleta amarilla.

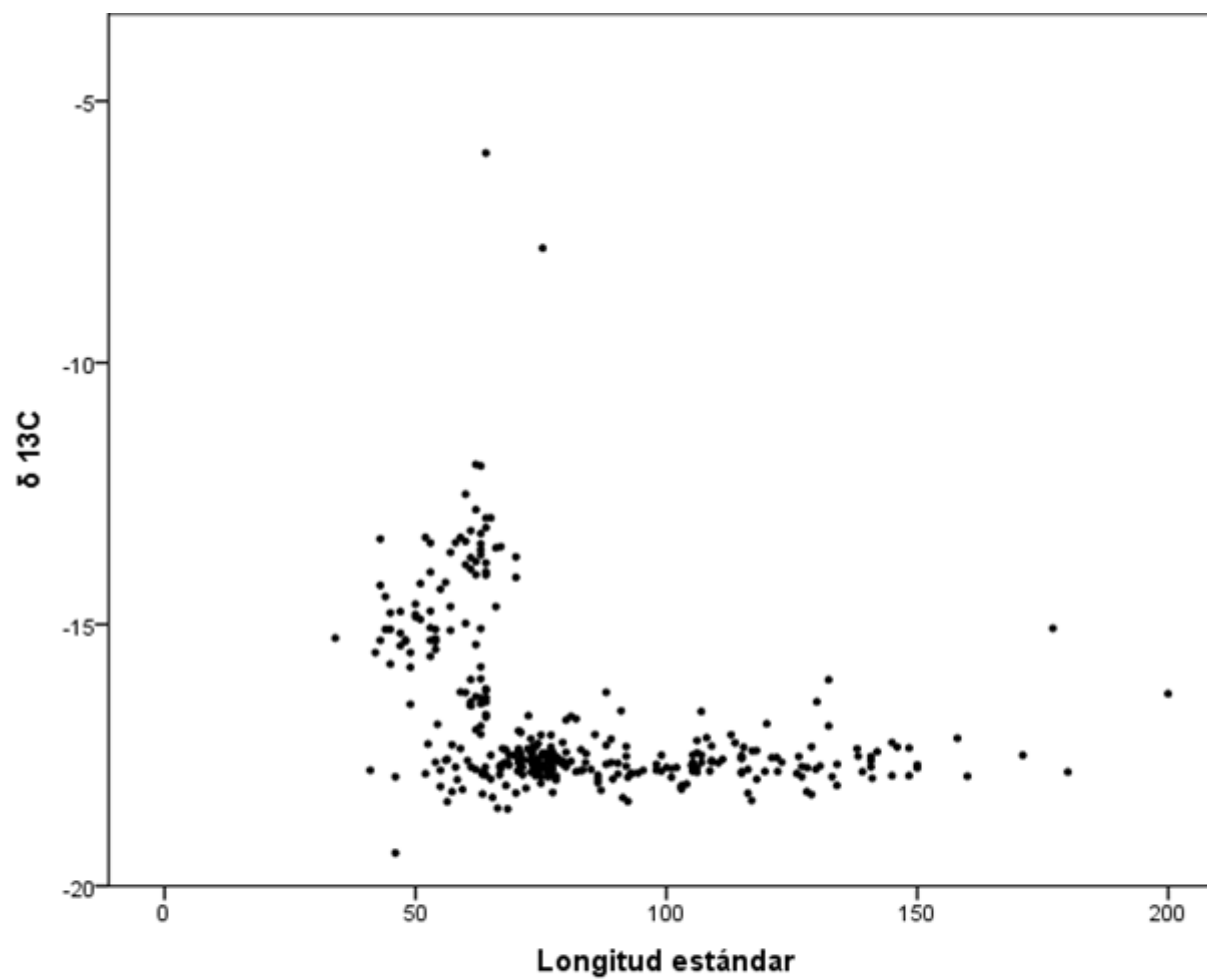


Figura 12. Relación entre las concentraciones de Carbono y la longitud estándar medidas en individuos de atún aleta amarilla.

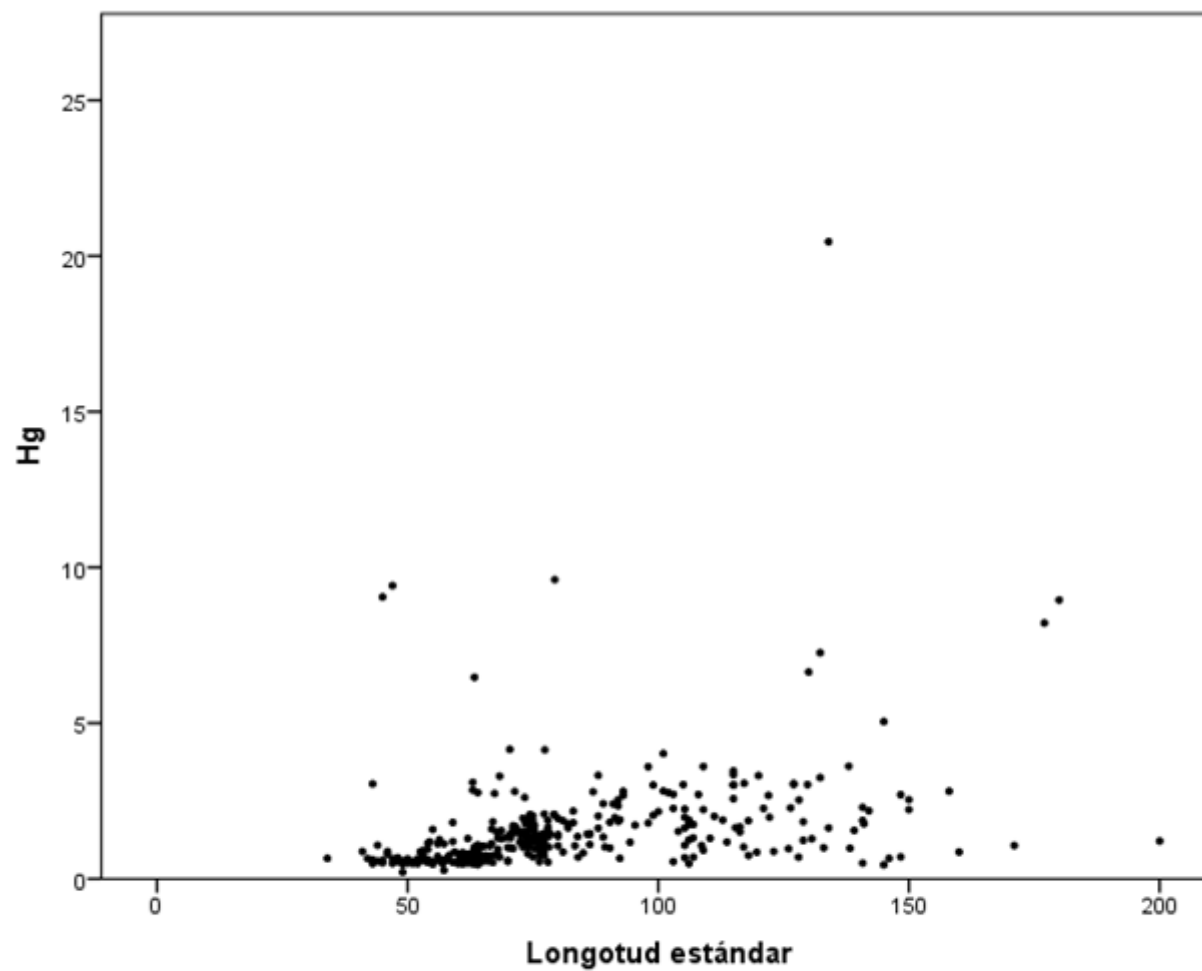


Figura 13. Relación entre las concentraciones de Mercurio y la longitud estándar medidas en individuos de atún aleta amarilla.

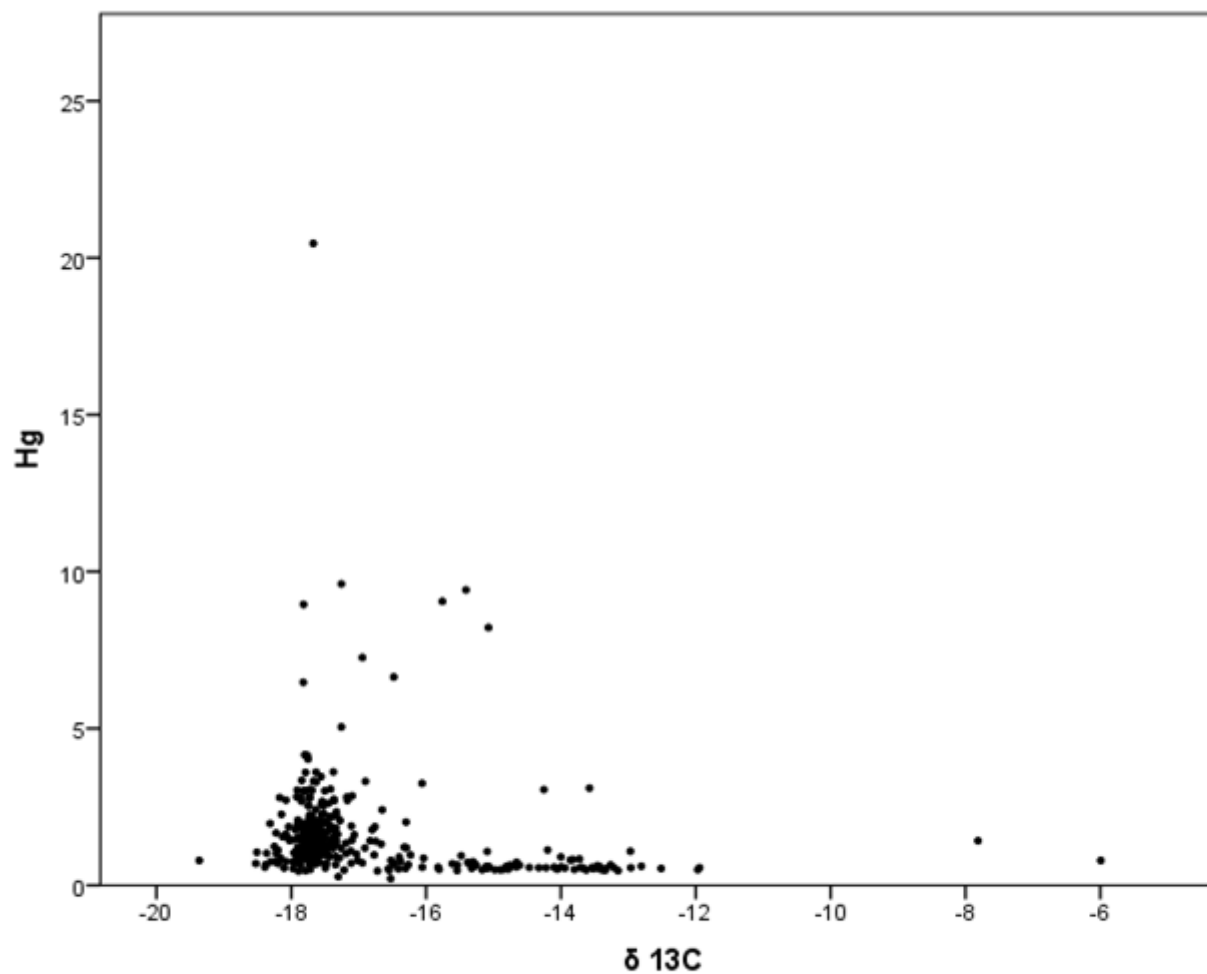


Figura 14. Relación entre las concentraciones de Mercurio y las concentraciones de Carbono medidas en individuos de atún aleta amarilla.

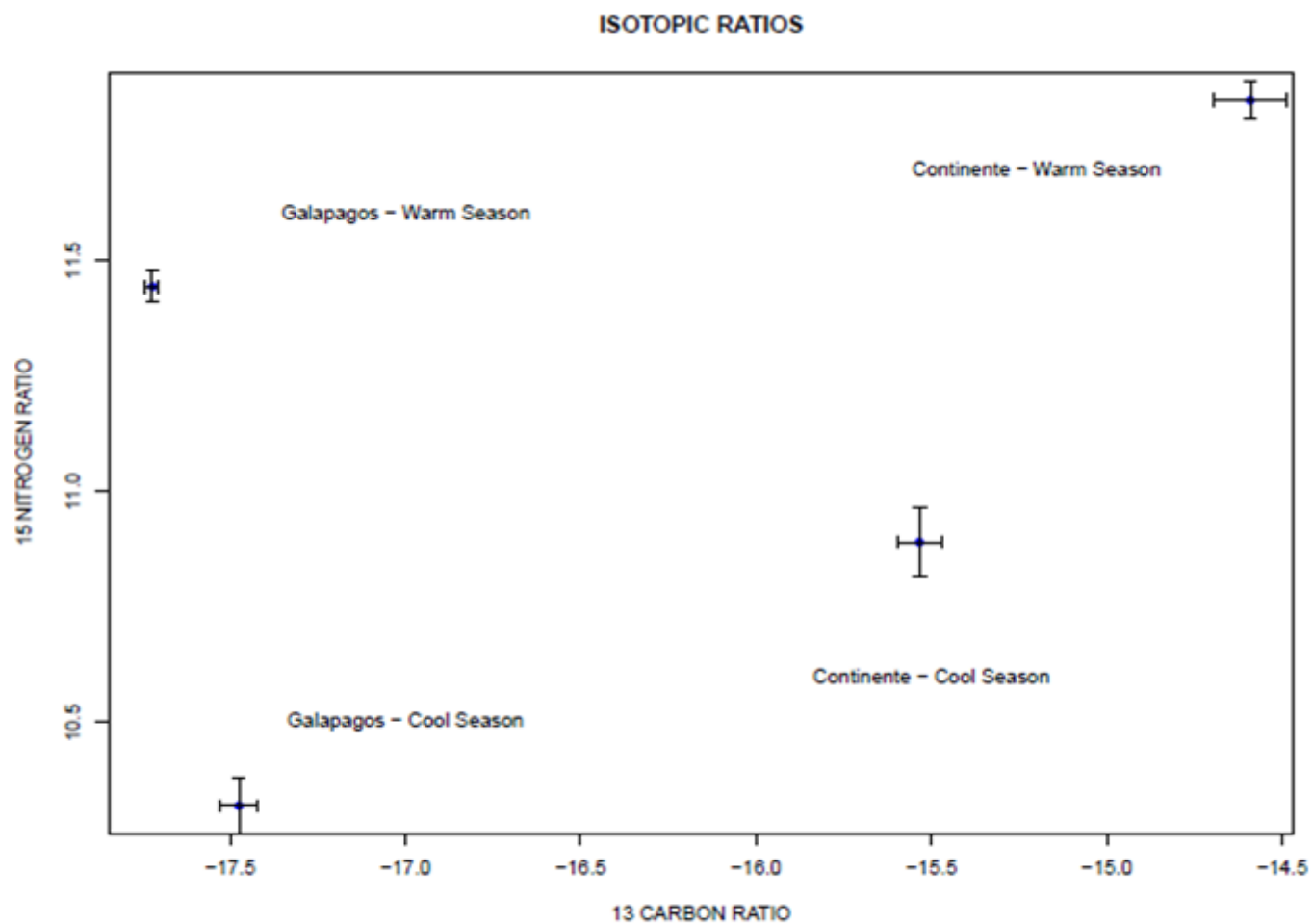


Figura 15. Relación entre las concentraciones de Carbono y Nitrógeno durante la época caliente y la época fría entre la Reserva Marina de Galápagos y el continente ecuatoriano

