

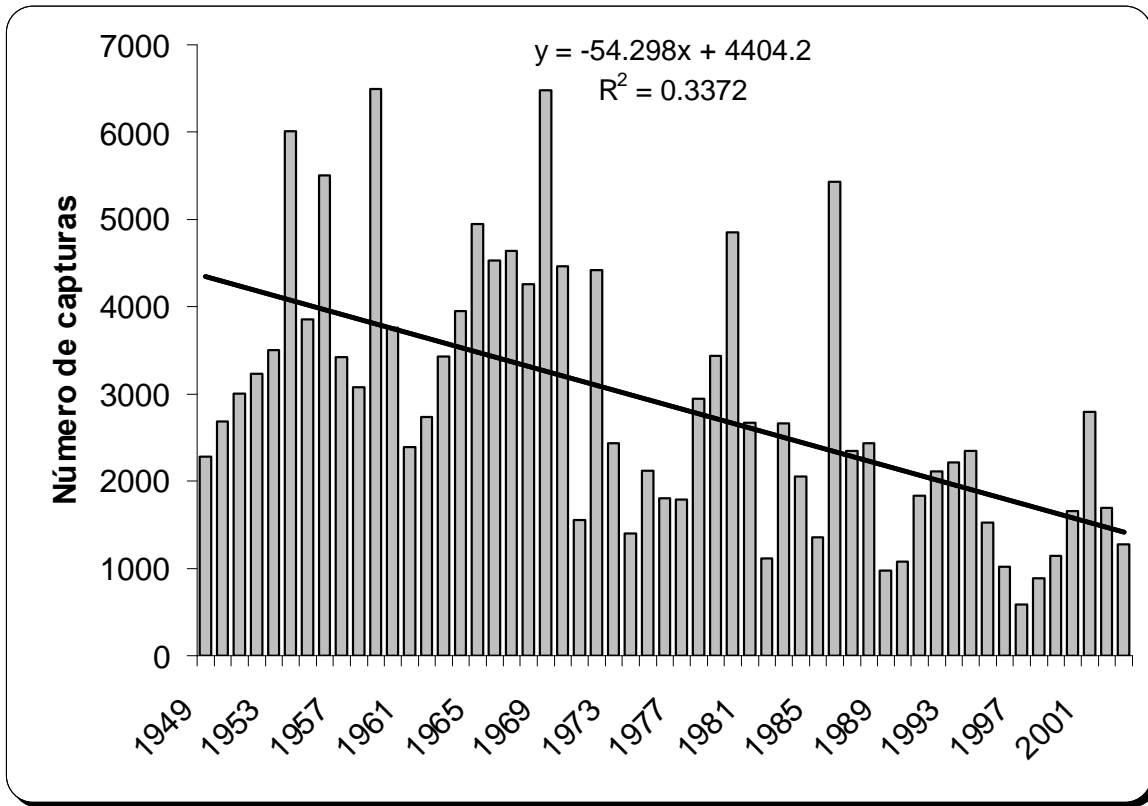
La pesca del salmón

El salmón constituye un recurso económico y social importante y es también un elemento clave en el funcionamiento de los ecosistemas fluviales en muchas regiones de la costa Atlántica Norteamericana y Europa entre las que se incluye el sector de la costa ibérica comprendido entre el río Miño y el Bidasoa. Esta área representa el límite sur de distribución de la especie donde existen factores extremos para su supervivencia como la temperatura del agua (Braña y col 1995).

La pesca del salmón atlántico tiene una larga tradición en los ríos del norte de España. Desde 1940 está regulada existiendo, con pequeñas variaciones, un periodo hábil de pesca que se sitúa entre los meses de marzo a julio Sin embargo, muchas cosas han cambiado desde que existen registros fiables sobre el número de salmones capturados durante la temporada de pesca. El dato mas llamativo es la reducción en el número de ríos en los que habita el salmón, el segundo la disminución de kilómetros de río accesible para salmón y el tercero es la reducción en el número de capturas (Ver informe WWF 2001). Valgan como ejemplo los dos ríos salmoneros más importantes de la península a principios del siglo pasado, el Miño y el Nalón. La construcción de presas en el primero de los casos y el desarrollo industrial en el segundo hacen que, en la actualidad, ambos se sitúen entre los últimos de la lista cuando ésta se ordena en función del número de capturas.

Atendiendo al número de capturas medias en toda la península (ver **figura 1**) los mínimos históricos se sitúan entre 1989-1998. Este descenso tan acusado en las capturas parece ser generalizado en todas las poblaciones de salmón y en todo su rango de distribución (ver Klemetsen y col 2003) y a la vez inesperado ya que coincide con el establecimiento de medidas proteccionistas que llevan al cierre total o parcial de pesquerías en las islas Faroes, en Groenlandia y Terranova (www.nasco.int).

Figura 1. Capturas acumuladas por años en los principales ríos salmoneros españoles.



En general, tiende a asumirse que las capturas de salmones durante la temporada de pesca son indicativas de la abundancia de la población. Desde que existen registros en el año 1949, se considera que las estimas pueden ser fiables desde el año 1955, aunque pueden existir discrepancias entre ríos. En ausencia de medidas reguladoras se estima que la tasa de explotación del salmón puede estar próxima al 40% (Consuegra y col 2005).

Desde 1970 aproximadamente y con el objeto de frenar la caída demográfica se han realizado diversas actuaciones en los ríos salmoneros españoles. Entre los años 1970-1992 se realizaron intensas repoblaciones de salmones importados del norte de Europa (Escocia, Irlanda, Noruega). Desde 1992 hasta la actualidad todos los ríos son suplementados en mayor o menor medida con salmones nativos, procedentes del desove artificial de salmones de retorno al río y que son criados en piscifactoría durante los primeros estadios de vida, con lo que se consigue una supervivencia superior a la del río durante ese periodo.

El resultado de las repoblaciones realizadas anteriores a 1998 no parece tener como resultado un incremento sustancial en el número de salmones retornados al río, es más, en todos ellos se aprecia una bajada en el número de capturas entre los años 1995-1999 (dependiendo de los ríos) que como se mencionó anteriormente corresponde con un descenso global del salmón en todo su rango de distribución. Las capturas, en general han mejorado durante los últimos 6 años, si bien los límites en el número de capturas establecidas en determinados ríos como el Bidasoa, Ulla y Lérez hacen que las capturas no sean necesariamente representativas de la abundancia.



Conservación

El interés por conservar diferentes líneas o especies se deriva de la fuerte disminución en los censos de poblaciones de especies amenazadas por diferentes causas. La importancia e interés de la conservación de especies, se puede resumir en cuatro aspectos: el primero de ellos es de orden genético-productivo, ya que la diversidad es necesaria para mantener la variabilidad de las poblaciones, la cual permite la adaptación a diferentes ambientes, algunas veces adversos; el segundo aspecto, científico, ya que el estudio de cada población en particular puede ser de interés para detectar posibles genes únicos y valiosos, en el momento actual o en el futuro, en estas poblaciones; el tercero de orden histórico-cultural, dado que la conservación de determinadas razas o líneas representan un patrimonio genético de un país y como historia viva y paralela al desarrollo de la población humana; y el cuarto de índole ecológico-ambiental, ya que los ecosistemas son el resultado del equilibrio entre clima, flora y fauna, y cualquier factor que afecte a alguno de estos componentes estaría atentando contra el equilibrio, deteriorando el medio y la simbiosis ecológica de la zona.

El primer paso en cualquier plan de conservación o recuperación consiste en decidir qué población hay que mantener o cuál es la unidad de conservación. En este proceso hay que tener en cuenta razones ecológicas, culturales, económicas, el grado de amenaza de la población, así como de la probabilidad de éxito del programa. También es primordial la definición de criterios genéticos que permitan determinar las prioridades a la hora de mantener o desechar poblaciones de la misma especie. Pueden establecerse Unidades Significativamente Evolutivas (ESUs) de Conservación que se definen como "una población o grupo de poblaciones reproductivamente aislado de otras poblaciones de la misma especie y que representa un componente importante del legado evolutivo de la especie". Para definir las unidades de conservación se necesitan los datos ecológicos y genéticos que permitan establecer las relaciones entre las poblaciones y su grado de aislamiento, así como la variabilidad genética que es fruto de la evolución pasada de la población y de la que va a depender su evolución futura.

Uno de los principales problemas que afectan a las poblaciones minoritarias, son los inevitables apareamientos entre individuos emparentados, que se traduce genéticamente en un incremento de la consanguinidad (homocigosis) con la consiguiente depresión consanguínea; una reducción de los valores medios fenotípicos de los caracteres productivos y reproductivos, y por último, y como consecuencia de esos problemas reproductivos, la inevitable disminución y/o extinción de la población.

La mejor oportunidad para que una especie o una población amenazada se recupere es la *Recuperación in-situ*, es decir, cuando todavía existen poblaciones en el área de distribución original, incluso aunque sean pequeñas. La recuperación se puede lograr mediante la reducción de la contaminación y degradación ambiental, reducción de las causas de mortalidad como el control o prohibición de la caza y la pesca, creación de reservas naturales, aumento de la migración artificial mediante el transporte de individuos, reintroducción de una especie en lugares donde se había extinguido previamente y otras acciones que mejoren el hábitat de la especie. En los casos en que la recuperación in situ sea imposible, porque las poblaciones salvajes sean incapaces de auto-mantenerse o sea imposible revertir el declive antes de que se prevea su extinción, la única posibilidad de recuperación es la *Recuperación ex-situ*. Consiste en capturar algunos o todos los individuos de la población superviviente y crear una población en cautividad que eventualmente será reintroducida en su hábitat natural. La cautividad se lleva a cabo en zoológicos, parques naturales, acuarios, jardines botánicos y también en bancos de gametos. Los objetivos en estos programas son: evitar la consanguinidad, mantener la mayor variación genética posible y proteger la población de la adaptación a la cautividad.

En la mayoría de los programas de conservación de salmónidos se opta por una estrategia intermedia conocida como programas de *suplementación*. La idea es aumentar los censos poblacionales mediante la adición de individuos criados en cautividad. Para ello, adultos de retorno al río son capturados y trasladados a la piscifactoría donde se reproducen y se crían. Una vez superadas las primeras fases de vida son reintroducidos en los ríos de procedencia de sus padres.

Los criterios básicos para el establecimiento de una población en cautividad se pueden resumir en:

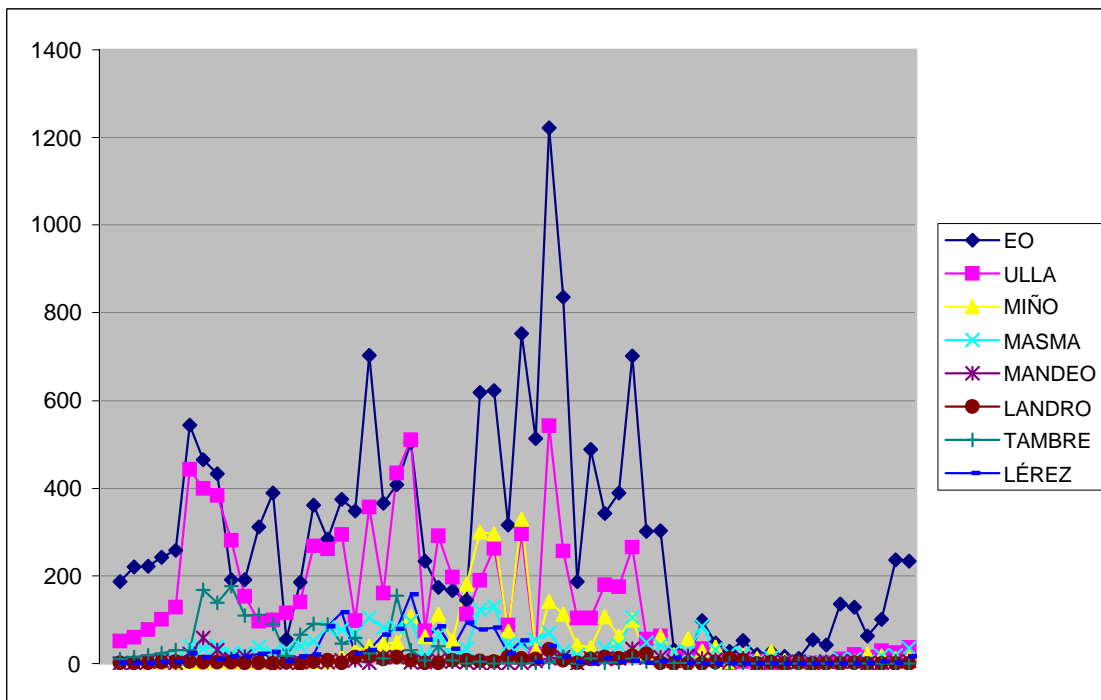
- 1 Utilizar suficiente número de reproductores para asegurar la conservación de la mayor parte de la diversidad genética de la población
- 2 Intentar que los reproductores sean una muestra AMPLIA y ALEATORIA de la población
- 3 Realizar programas de cruces que maximicen la variabilidad genética
- 4 Evitar la selección para las condiciones de piscifactoría



Ríos salmoneros en Galicia

En Galicia en la actualidad se consideran 6 ríos salmoneros en los que la pesca está regulada. Ordenados por masa de agua salmonera son: el Ulla, que tiene una masa de agua salmonera de 67 km, el río Eo de 55,3 km, el Miño de 26 km, el Léz de 22,5, el Masma de 22,1 km, y el Mandeo de 14,6 Km. Además de forma residual y/o ocasional hay salmones en los ríos Landro, Ouro, Tambre, Umia y Verdugo, pero en estos no se autoriza la pesca.

Figura 2. Capturas de pesca desde 1949 hasta la actualidad.



Plan de recuperación del salmón en Galicia

Desde mediados de los años 80, las poblaciones de salmón atlántico de los ríos gallegos muestran signos de un claro declive, según el índice de abundancia medido a través los registros oficiales de capturas (ver **Figura 2**). Motivada por ello, la Xunta de Galicia inicia los trabajos dirigidos a tratar de recuperar la especie. Los esfuerzos se centran por un lado en las tres cuencas fluviales donde aún habita el salmón en el sur de Galicia (Ulla, Léz y Miño) y por otro en los ríos cantábricos (Eo, Masma, Landro y Ouro) e incluyen acciones combinadas de mejora en la accesibilidad y en las poblaciones.

Tras una primera fase de estudios previos (análisis de capturas oficiales, inventarios de hábitat-piscícolas, investigación sobre repoblaciones y funcionamiento de estaciones de control de peces anádromos) se mejoró la accesibilidad, lo que ha permitido que el salmón pueda colonizar toda el área potencial para la especie en el cauce principal del río Léz, mientras que en los ríos Ulla y Tea se mejora el remonte.

Respecto a la mejora de las poblaciones, la reforma de instalaciones y la puesta en marcha de nuevas técnicas de cultivo en la Piscifactoría de Carballedo, han permitido durante los años 1997-2001, producir 850.000 huevos embrionados, de los cuales 100.000 fueron plantados en el río, y repoblado 550.000 juveniles en distintas fases vitales. Para conseguir estos alevines se capturaron en el periodo indicado 70 hembras salvajes, que aportaron en su primer desove el 40% de la producción total de huevos, mientras que el 60% restante se obtuvo gracias a la recuperación de zancados y al cultivo holobiótico. Todos de los salmones cultivados en piscifactoría son devueltos al río marcados para poder controlar el éxito de la repoblación.

Entre los años 1999-2001 se detectaron más de 70 salmones marcados, lo que permitió: *(i)* calcular la tasa mínima de recaptura, que fue de 1.3 adultos por cada 1.000 juveniles repoblados, *(ii)* establecer que la supervivencia en el mar (de esguín a adulto) es al menos dos veces superior en los salmones salvajes, y que *(iii)* el rendimiento en todo el ciclo vital (de huevo adulto) es casi dos veces superior en los peces de repoblación frente a

los salvajes, manteniendo los dos grupos unas características bastante similares. La información recogida en las Estaciones de Control de Peces Migratorios, nuevo indicador del tamaño de la población de salmón en los ríos Ulla y Lérez, confirma que el retorno de peces de repoblación, contribuye en gran medida al incremento en el número de salmones.

En el año 2001, el 60% de los salmones de retorno del río Lérez y el 44% de los retornados al río Ulla eran de repoblación (Caballero, 2002). El desove natural de los peces de retorno hace por tanto que la población de cada río sea una mezcla de salmones nacidos en el propio río, los descendientes de los salmones de retorno repoblados (considerados nativos) más los salmones que se añaden cada año procedentes de la piscifactoría.



Temporada de Pesca

Los planes de recuperación son compatibles con la explotación recreativa que está regulada con el establecimiento de cotos de pesca, licencias por coto y capturas por coto y licencia. La temporada hábil de pesca varía según los ríos. En el río Eo la temporada 2005 comenzó el 20 de marzo y finalizó el 31 de julio, la temporada 2006 comenzó el 26 de marzo y remató el 15 de julio con la excepción del coto Salmerán, donde el periodo de pesca está comprendido entre el 1 de mayo y el 31 de julio.

Para el resto de los ríos autorizados, Lárez, Mandeo, Masma, Miño y Ulla la temporada de pesca en el año 2005 y en el 2006 dio comienzo el 1 de mayo y terminó en el momento en el que se alcanza la cuota anual y en su defecto el 31 de julio.

Θ Capturas de pesca

Todos los ríos salmoneros con excepción del río Eo tienen establecida una cota máxima de pesca para el global del río o para determinados cotos. Los límites para las temporadas 2005 y 2006 pueden verse en la **tabla 1**.

Tabla 1. Cupo de capturas por río, coto y temporada de pesca.

Río	Temporada 05	Temporada 06
Lárez (coto Monteporreiro)	7	15
Mandeo (coto de Betanzos)	5	5
Masma (coto de Celeiro)	40	40
Miño (coto de Frieira)	5	5
Ulla (cotos de Sinde, Couso e Ximonde)	40	40

El número de salmones pescados en los ríos gallegos durante las temporadas 2005 y 2006 está indicado en la **tabla 2**.

Tabla 2. Capturas realizadas por río y temporada de pesca

Río	Temporada 05	Temporada 06
Eo	236	234
Lérez	1	16
Mandeo	5	6
Masma	19	35
Miño	12	14
Ulla	25	36

El río Tambre

La desaparición del salmón Atlántico en el río Tambre está ligada a la construcción de la presa Barrié de la Maza, que supone un obstáculo insalvable para las especies migradoras. La presa se encuentra a 7 Km de la desembocadura, y además no faculty zonas de freza porque desde la instauración del (mal llamado) caudal ecológico, turbinado por una minicentral instalada a pie de presa, agua del fondo del embalse arrastra limos que se depositan en el lecho del río.

A pesar de ello, en el año 2005 se contabilizaron nada menos que 60 individuos adultos de salmón obteniéndose muestra de 43 de ellos. Esta aparición espontánea nos hizo pensar que, dado que la población del río Ulla parece bastante saneada, podría ser que la capacidad de carga de este río se vea superada. En caso de que esto ocurra, no sería extraño que salmones del Ulla entrasen en el Tambre, lo que explicaría esta presencia anecdótica. Esta hipótesis será discutida más adelante.

Objetivos para el mantenimiento de las poblaciones de salmón

Una vez en marcha el programa de recuperación del salmón basado en la introducción de individuos criados en cautividad en los ríos y que, como se ha expuesto, los resultados obtenidos mediante marcaje físico indican que son satisfactorios, desde el punto de vista genético es importante considerar dos aspectos:

- 1) Que la variabilidad genética resultante de los cruces de piscifactoría sea equivalente a la variabilidad genética del río.
- 2) Que la explotación recreativa del salmón no elimine variabilidad genética de las poblaciones.

Para conseguir estos objetivos es necesario analizar las poblaciones capturadas durante la temporada de pesca, los salmones de entrada al río desde los meses de agosto a diciembre



Herramienta de estudio de la variabilidad genética. Loci microsatélites

La aplicación de nuevas tecnologías en biología molecular proporciona información acerca de los genotipos de varios loci polimórficos, y por tanto, permite cuantificar la variabilidad genética mediante un listado de alelos y su frecuencia de distribución en los distintos loci.

El uso de marcadores moleculares permite incrementar la eficiencia de los métodos de conservación. La amplificación de secuencias de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa, ofrece un método no destructivo para genotipar especies dañadas. Entre estos marcadores se cita el uso de los microsatélites o “*short-sequence repeat tandem*” (SSRT). Los marcadores microsatélites son segmentos cortos de ADN de 1 a 6 pares de bases (pb), los cuales se repiten en tándem y de forma aleatoria en el genoma de los seres vivos. Una de las ventajas de estos marcadores *versus* otros (minisatélites, RFLP, RAPD, etc.) radica en que están considerados, por la mayoría de autores como la más poderosa herramienta para los estudios de genética de poblaciones (Cheng y Crittenden, 1994), ya que: son muy polimórficos, presentan herencia mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), son fáciles de medir y analizar, y son cien por cien fiables, repetitivos y pueden ser automatizados. Un buen marcador molecular debe reunir una serie de características para maximizar su utilidad: buena distribución a lo largo del genoma, alto grado de polimorfismo, la técnica para analizar el marcador debe ser rápida y práctica, y debe poder repetirse con fiabilidad en otros laboratorios.

El elevado polimorfismo que presentan los microsatélites y la posibilidad de identificar ambos alelos, los hace muy útiles para identificaciones individuales, porque es muy poco probable que dos individuos elegidos al azar, si son analizados para una serie de estos marcadores, compartan todos sus alelos. Una de las principales utilidades de este tipo de marcador, es la posibilidad de estimar los niveles de variabilidad genética dentro de las poblaciones y analizar las relaciones genéticas existentes entre las mismas. Este tipo de estudios es de gran importancia para realizar estimaciones de la diversidad genética y de la

consanguinidad existente en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción.

Durante los últimos años se han realizado muchos estudios que han utilizado los microsátélites para análisis filogenéticos, concluyendo que, con un buen número de loci y con apropiadas tasas de mutación, los microsátélites pueden dar una muy buena aproximación de la filogenia (Takezaki y Nei, 1996). Probablemente este es el campo en el cual han sido más extensamente utilizados, mientras que su otro gran campo de acción ha sido para la construcción de mapas genéticos (proyecto del genoma humano y diferentes proyectos de mapas en animales domésticos). En los estudios de genética poblacional, estos marcadores permiten la identificación de cada alelo por locus, y obtener datos poblacionales, calcular las frecuencias alélicas, y a partir de estas estimar las distancias genéticas entre las poblaciones o individuos (Bowcock y col. 1994; Ponsuksili y col. 1999).

La diversidad o variabilidad genética se puede definir como “la habilidad genética para variar”, y por ende, la capacidad de responder tanto a variaciones de índole ambiental como a cambios en los objetivos de selección. Es así que la variabilidad genética constituye la base del progreso genético (Rochambeau 2000). Y pueden ser medidos a través de una gran diversidad de estadísticos que cuantifican la variabilidad genética y resumen la información a términos más manejables. Cada uno de ellos aprecia diferentes aspectos de la variabilidad y su utilidad práctica estará en función del propósito del estudio.

En el salmón atlántico los primeros estudios de secuencias nucleares comienzan en el año 1990 con la hibridación en Southern blot (Taggart y col 1990a) de las sondas hipervariables 33.15 y 33.6 aisladas en genoma humano por Jeffreys y Colaboradores (1987). El resultado es un patrón multibanda conocido como huella dactilar del ADN que es difícil de interpretar. El aislamiento por Taggart y colaboradores (1990b) de las sondas hipervariables de locus único a partir de una genoteca parcial de salmón Atlántico digerido con *Bam*HI construida en EMBL3 usando las sondas 33.15 y 33.6, abre la puerta a la utilización de loci muy polimórficos (sobre todo en comparación con los loci isoenzimáticos) en esta especie. El análisis de minisátélites fue remplazado por el uso de microsátélites ya que estos son más sencillos de analizar y la metodología es fácilmente

transferible entre laboratorios, ya que las secuencias de los microsatélites, mucho más pequeñas y sencillas, pueden encontrarse en el Genebank. Los primeros microsatélites específicos para el salmón Atlántico fueron aislados en el año 1993 por Sletan y colaboradores y desde esa fecha se han desarrollado más de 200 loci, aunque para el estudio poblacional no todos son igual de “populares”. El número de individuos analizados por población y el número de loci microsatélites empleados ha crecido rápidamente desde los comienzos a la actualidad y este crecimiento está estrechamente relacionado con la utilización de secuenciadores automáticos, y que se ha pasado de la elaboración “manual” utilizando geles de acrilamida y tinción radiactiva o con plata, a la utilización de los primeros secuenciadores de gel hasta los actuales se pueden llegar a procesar 96 muestras en poco más de una hora.

Actualmente existen muchos datos disponibles aunque no todos los resultados son comparables, dado que no todos utilizan los mismos loci y aunque sea así, si estos no son analizados con la misma metodología pueden existir diferencias. Se ha celebrado en Shepherdstown, Virginia, (USA) del 10 al 12 de Noviembre de 2004 una reunión, “Atlantic salmon, Microsatellites and Genetic Stock Identification” en la que han participado diferentes grupos de investigación para llegar a un acuerdo en la utilización de los mismos loci microsatélite y establecer un laboratorio de referencia que permita comparar los datos de las diferentes poblaciones.



Muestras analizadas

Se han analizado los salmones capturados durante las temporadas de pesca 2005 y 2006 en los ríos Ulla, Lárez, Eo y Masma y los salmones estabulados en las presas de Bora (río Lárez) y las presas de Ximonde y Liñares (río Ulla). Durante el año 2005 se capturaron 43 salmones en el río Tambre que también fueron analizados.

En total, se han analizado 986 muestras procedentes de estos ríos. En la **tabla 3** se desglosan las muestras en función de su río de origen y de su procedencia (estación de captura o pesquerías).

Río	Captura	Pesquería
Lárez		
2005	55 (49)	1 (0)
2006	90 (86)	16 (7)
Ulla		
2005	160 (158)	25 (23)
2006	187 (187)	36 (36)
Tambre		
2005	–	43 (43)
Masma		
2005	–	20 (20)
2006	–	36 (35)
Eo		
2005	–	236 (223)
2006	–	244 (119)

Tabla 3. Muestras analizadas (entre paréntesis) del total de muestras recogidas (en primer término).

Metodología

Para el estudio de las poblaciones de salmón de los ríos anteriormente citados se ha utilizado una batería de 6 microsatélites, que contienen repeticiones de tetranucleótidos. La relación de microsatélites utilizados se presenta en la **tabla 4**.

Locus	Rango	Nº alelos	Referencias
Sssp2210	116-184	13	Patterson y col., 2004
SsspG7	110-210	18	Patterson y col., 2004
SsaD144	116-220	27	King y col., 2005
Ssa202	224-276	12	O'Reilly y col., 1996
Sp2201	214-362	28	Patterson y col., 2004
SsaD157	300-416	25	King y col., 2005

Tabla 4. Microsatélites utilizados. El número de alelos se refiere al obtenido en este estudio considerando todas las poblaciones.

Para el análisis de dichos fragmentos se realizaron reacciones en cadena de la polimerasa (PCR), combinando en la misma reacción varios de estos microsatélites (multiplex). Así, en una única reacción se amplificaron los loci SSp2210, SSpG7 y Ssa202, y en una segunda multiplex los loci SsaD144, Sp2201 y SsaD157. Los fragmentos amplificados fueron sometidos a electroforesis en un secuenciador automático (ABI PRISM 310, Applied Biosystems), que nos permite la lectura simultánea de los seis microsatélites utilizados. Esto es posible gracias a que los cebadores van marcados con fluorescencia de diferente longitud de onda.

En la **figura 3** se representa la salida del programa de procesado de datos (GeneScan 3.7, Applied Bioystems) utilizado, después de que las muestras sean analizadas en el secuenciador automático.

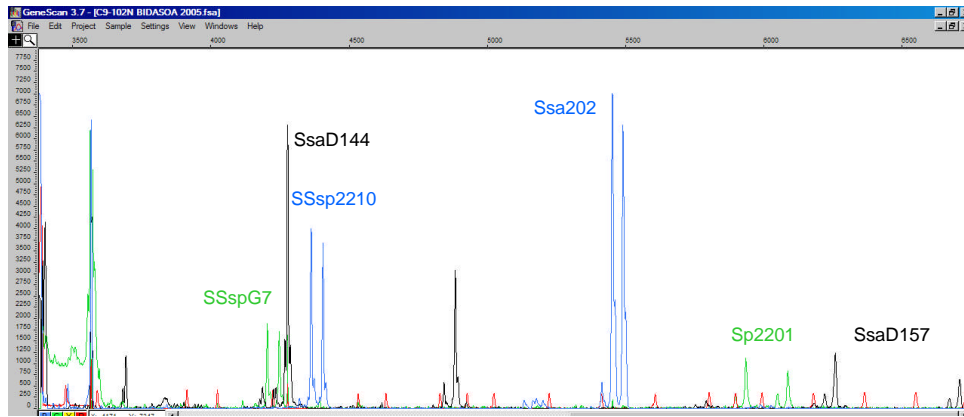


Figura 3. Electroferograma obtenido a partir de la lectura de los microsatélites en el secuenciador automático.

Una vez procesados los datos se han realizado diferentes análisis estadísticos para evaluar el estado genético de estas poblaciones de salmón.



Evaluación del método

El uso de loci microsatélites es una técnica muy eficiente para analizar la dinámica genética de las poblaciones. Sin embargo, durante el proceso de amplificación y genotipado se pueden producir errores. Para comprobar la veracidad y fiabilidad de los datos se empleó el programa MICRO-CHECKER (Van Oosterhout y col 2004). Esta aplicación utiliza el método de simulaciones de Montecarlo para generar homocigotos esperados y frecuencias de combinaciones de alelos en heterocigotos.

La **figura 4** muestra la representación gráfica que genera este programa, para un locus de una de las poblaciones analizadas donde se observa que ninguna de las poblaciones analizadas tiene errores de genotipado.

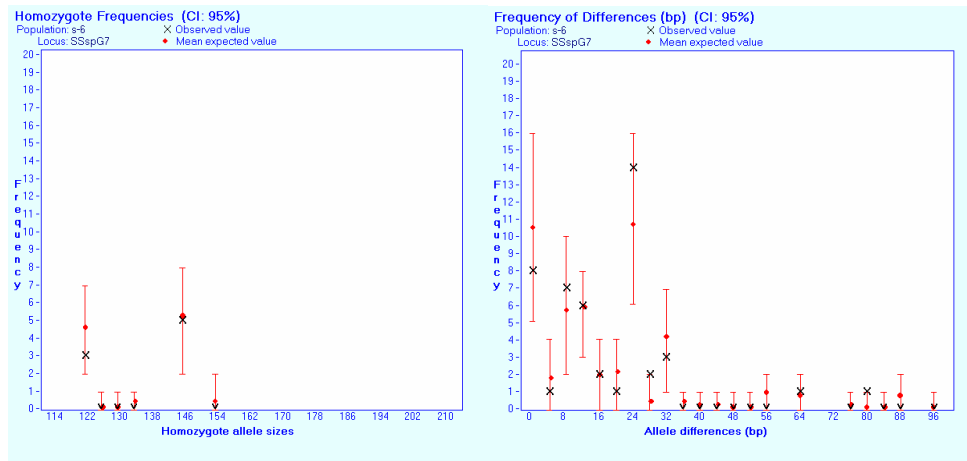


Figura 4. Resultados derivados del programa MICRO-CHECKER. En la gráfica de la izquierda se representan con barras rojas los intervalos de los homocigotos esperados. En la gráfica de la derecha se muestran las frecuencias de todas las combinaciones posibles de los heterocigotos esperados. Las cruces se corresponden con los datos derivados de la población de estudio.

Análisis de la variabilidad

En el **Apéndice 1** se representan gráficamente las frecuencias alélicas para cada locus analizado tanto para los salmones capturados en las estaciones de captura de los ríos Ulla y Lérez como para los capturados durante la temporada de pesca en los ríos Ulla, Masma y Eo. También se incluyen los salmones capturados en el río Tambre en el año 2005. Los análisis se realizaron utilizando los programas GENEPOP (Raymond y Rousset 1995), GENETIX (Belkhir y col 1998) y FSTAT (Goudet 2001).

En todos los casos en los que se han llevado a cabo pruebas de significación, se ha aplicado la corrección secuencial de Bonferroni para multitest, que corrige para el error tipo I. En función del número de test realizados, por tanto, el valor crítico de probabilidad varía.

Todas las poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg para todos los loci, exceptuando la población Ulla 2006 (captura) para los loci SsaD144 y Sp2201. Este equilibrio global es indicativo de que la reproducción se está realizando al azar, lo cual es un hecho fundamental para evitar la consanguinidad entre los individuos de cada población.

En la **tabla 5** se muestra un resumen de los parámetros de variabilidad genética para todos los grupos analizados. El número total de alelos observados (N_A) en todas las poblaciones varía entre 6 para el locus Ssa202 y 26 para el Sp2201. Debido a que el tamaño de la población es diferente en cada grupo de estudio, el número de alelos observado debe ser corregido por el tamaño de la población (riqueza alélica R_A). En este caso, los datos de riqueza alélica corresponden a una población virtual de 20 individuos (tamaño utilizado para las simulaciones que se corresponde con el de la población más pequeña). Su promedio para todos los loci dentro de cada población oscila entre 9.85 (Lérez 2005) y 12.7 (Masma 2005). A modo comparativo, decir que el promedio del número de alelos *observado* en todas las poblaciones es 20.5. Teniendo en cuenta que es un “dato bruto” en el que se contabilizan todos los individuos, es decir, que no se corrige por el tamaño de población, el intervalo de riqueza alélica promedio (dato corregido) entre el que oscilan las

poblaciones es bastante alto. El promedio de heterocigosis observada (H_o) para todos los loci oscila entre valores de 0.80-0.87, por lo que todas las poblaciones se encuentran en un rango de variabilidad bastante alto y similar al de otras poblaciones de salmón naturales. Además, apenas hay diferencias entre los promedios de las heterocigosis observada y esperada (H_E) siendo este dato indicativo de que el patrón de reproducción de las poblaciones es al azar, como ocurriría en una población natural.

Tabla 5. Estimaciones de la variabilidad genética H_o , heterocigosis observada; H_E , heterocigosis esperada; N_A , número observado de alelos; R_A , riqueza alélica; DE, desviación estándar de la media.

A. Datos de la estación de captura.

		Sssp2210	SsspG7	SsaD144	Ssa202	Sp2201	SsaD157	Total (DE)
Lérez 2005 $N = 49$	H_o	0.73	0.83	0.75	0.86	0.83	0.81	0.80 (0.05)
	H_E	0.70	0.77	0.87	0.75	0.88	0.88	0.81 (0.08)
	N_A	7	11	20	6	17	17	13
	R_A	6.01	8.51	13.94	5.61	11.92	13.13	9.85
Lérez 2006 $N = 93$	H_o	0.70	0.75	0.89	0.84	0.90	0.88	0.83 (0.08)
	H_E	0.72	0.84	0.90	0.77	0.90	0.88	0.83 (0.08)
	N_A	10	12	24	7	17	19	14.8
	R_A	7.16	9.15	15.47	5.65	11.96	12.59	10.3
Ulla 2005 $N = 158$	H_o	0.70	0.75	0.89	0.84	0.90	0.88	0.85 (0.05)
	H_E	0.72	0.84	0.90	0.77	0.90	0.88	0.84 (0.06)
	N_A	11	16	21	8	20	22	16.3
	R_A	6.73	10.98	13.67	6.65	12.87	13.48	10.73
Ulla 2006 $N = 187$	H_o	0.78	0.83	0.90	0.83	0.95	0.95	0.83 (0.09)
	H_E	0.68	0.80	0.86	0.79	0.87	0.90	0.84 (0.08)
	N_A	9	15	23	8	17	21	15.5
	R_A	6.85	8.85	15.65	6.13	12.32	13.12	10.49

B. Datos de las pesquerías.

		Sssp2210	SsspG7	SsaD144	Ssa202	Sp2201	SsaD157	Total (DE)
Ulla 2005 N = 23	<i>Ho</i>	0.75	0.83	0.89	0.85	0.87	0.89	0.87 (0.07)
	<i>HE</i>	0.75	0.83	0.90	0.79	0.91	0.88	0.82 (0.08)
	<i>NA</i>	6	11	14	7	13	14	10.8
	<i>RA</i>	5.87	10.32	13.66	6.96	12.76	13.76	10.6
Ulla 2006 N = 36	<i>Ho</i>	0.69	0.78	0.92	0.81	0.93	0.88	0.81 (0.09)
	<i>HE</i>	0.71	0.81	0.92	0.80	0.90	0.88	0.83 (0.08)
	<i>NA</i>	8	11	16	6	13	16	11.7
	<i>RA</i>	7.23	9.76	13.80	5.57	11.80	13.90	10.3
Tambre 2005 N = 43	<i>Ho</i>	0.69	0.81	0.91	0.77	0.91	0.91	0.83 (0.09)
	<i>HE</i>	0.75	0.83	0.91	0.78	0.90	0.88	0.84 (0.07)
	<i>NA</i>	10	10	20	9	15	15	13.2
	<i>RA</i>	8.78	8.90	15.18	6.86	12.84	12.99	10.9
Masma 2005 N = 20	<i>Ho</i>	0.80	0.80	0.80	0.85	0.95	0.90	0.85 (0.06)
	<i>HE</i>	0.82	0.85	0.91	0.80	0.90	0.92	0.87 (0.05)
	<i>NA</i>	6	12	17	8	15	18	12.7
	<i>RA</i>	6	12	17	8	15	18	12.7
Masma 2006 N = 35	<i>Ho</i>	0.86	0.91	0.91	0.74	0.89	0.91	0.87 (0.07)
	<i>HE</i>	0.78	0.86	0.91	0.74	0.91	0.93	0.86 (0.08)
	<i>NA</i>	8	13	19	8	17	18	13.8
	<i>RA</i>	6.64	11.26	15.41	7.29	14.64	15.98	11.9
Eo 2005 N = 223	<i>Ho</i>	0.76	0.77	0.92	0.76	0.91	0.88	0.83 (0.08)
	<i>HE</i>	0.81	0.80	0.92	0.74	0.91	0.91	0.85 (0.08)
	<i>NA</i>	11	15	25	9	26	23	18.2
	<i>RA</i>	7.72	9.64	15.17	6.37	14.84	13.76	11.3
Eo 2006 N = 119	<i>Ho</i>	0.79	0.79	0.87	0.66	0.89	0.92	0.82 (0.09)
	<i>HE</i>	0.78	0.82	0.91	0.73	0.90	0.92	0.84 (0.08)
	<i>NA</i>	10	16	21	9	20	19	15.8
	<i>RA</i>	6.87	10.62	13.11	6.06	14.15	13.99	10.8

C. Datos globales para los ríos Ulla y Léz.éz.

		Sssp2210	SsspG7	SsaD144	Ssa202	Sp2201	SsaD157	Total (DE)
Léz.éz 2005 N = 49	<i>Ho</i>	0.73	0.83	0.75	0.86	0.83	0.81	0.80 (0.05)
	<i>HE</i>	0.70	0.77	0.87	0.75	0.88	0.88	0.81 (0.08)
	<i>NA</i>	7	11	20	6	17	17	13
	<i>RA</i>	6.01	8.51	13.94	5.61	11.92	13.13	9.85
Léz.éz 2006 N = 93	<i>Ho</i>	0.70	0.75	0.89	0.84	0.90	0.88	0.83 (0.08)
	<i>HE</i>	0.72	0.84	0.90	0.77	0.90	0.88	0.83 (0.08)
	<i>NA</i>	10	12	24	7	17	19	14.8
	<i>RA</i>	7.16	9.15	15.47	5.65	11.96	12.59	10.3
Ulla 2005 N = 181	<i>Ho</i>	0.75	0.83	0.89	0.85	0.88	0.89	0.85 (0.05)
	<i>HE</i>	0.74	0.82	0.90	0.80	0.91	0.89	0.84 (0.07)
	<i>NA</i>	11	16	22	8	20	22	16.5
	<i>RA</i>	6.61	10.81	13.58	6.65	12.73	13.45	10.6
Ulla 2006 N = 223	<i>Ho</i>	0.71	0.78	0.91	0.79	0.91	0.89	0.83 (0.08)
	<i>HE</i>	0.71	0.81	0.92	0.80	0.90	0.88	0.84 (0.08)
	<i>NA</i>	10	15	23	8	18	21	15.8
	<i>RA</i>	6.88	8.96	15.36	6.06	12.22	13.32	10.5

Con objeto de detectar diferencias entre las poblaciones en cuanto a heterocigosis observada y riqueza alélica, se realizó un test ANOVA. No se detectaron diferencias significativas en ninguna de las comparaciones. Los resultados de este test se representan en la **figura 5**.

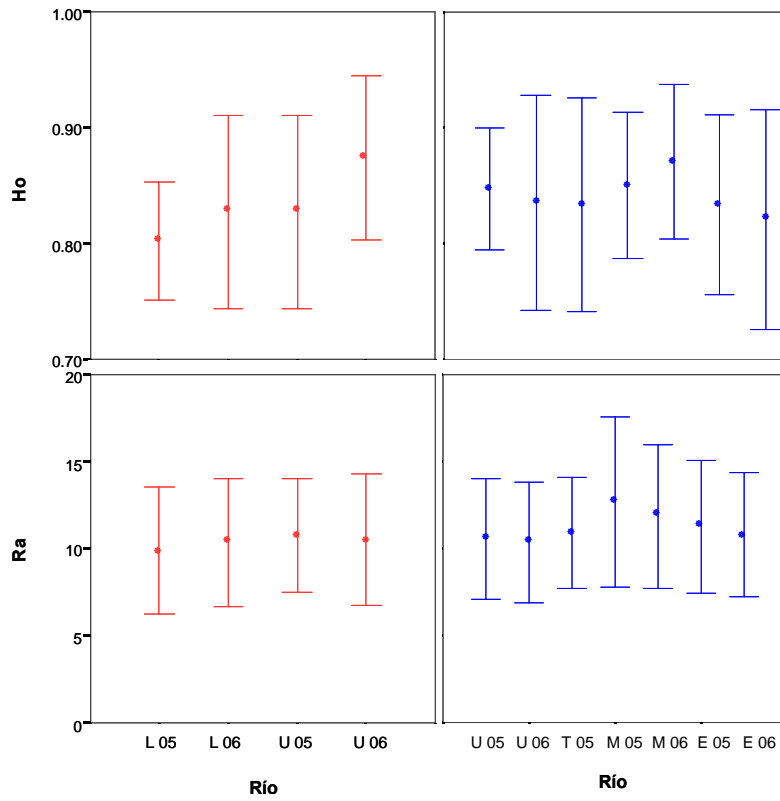


Figura 5. Diagrama de barras de error para heterocigosis observada y riqueza alélica, respectivamente. Los puntos representan medias, y las barras, 1 desviación estándar. En rojo se muestran los grupos de las estaciones de captura, y en azul los pescados.



Análisis de la consanguinidad

En un programa de repoblación, los objetivos fundamentales son maximizar la variabilidad genética y minimizar la adquisición de consanguinidad. Por tanto, la determinación de la consanguinidad (F) y otros parámetros subyacentes a ella como son el parentesco (f) y la distancia genética (d) dentro de cada población, son de gran utilidad para evaluar el estado de las poblaciones (**tabla 6**). La consanguinidad se define como la probabilidad de que los dos alelos de un individuo para un locus sean idénticos por descendencia. Del mismo modo, el parentesco se define como la probabilidad de que dos alelos de dos individuos distintos tomados al azar sean idénticos por descendencia.

Es importante puntualizar que estamos trabajando con datos moleculares, no genealógicos, por lo que cuando nos referimos a consanguinidad o parentesco, no se puede considerar en este caso identidad *por descendencia*, sino identidad *en estado*. Las estimas moleculares no son indicativas de la consanguinidad teórica. Existen métodos para aproximar la consanguinidad molecular a la genealógica, pero no existe un consenso sobre cuál utilizar ya que ninguno ofrece resultados satisfactorios. A pesar de ello, este análisis generará información útil en la toma de decisiones en repoblaciones sucesivas.



	f	F	d	$\pm DG$
Lérez				
2005	0.19	0.20	0.41	0.0029
2006	0.17	0.18	0.42	0.0014
Ulla				
2005	0.16	0.15	0.42	0.0007
C	0.16	0.15	0.42	
P	0.18	0.13	0.38	
2006	0.16	0.17	0.42	0.0016
C	0.17	0.17	0.42	
P	0.17	0.19	0.43	
Tambre				
2005	0.16	0.17	0.43	0.0008
Masma				
2005	0.14	0.15	0.44	-0.0053
2006	0.14	0.13	0.42	-0.0034
Eo				
2005	0.15	0.17	0.43	-0.0011
2006	0.16	0.18	0.43	-0.0001

Tabla 6. Estimaciones de parentesco (f), consanguinidad (F) y distancia genética (d) dentro de cada población. Se indica también la ganancia o pérdida de diversidad (DG) cuando la subpoblación es eliminada de la metapoblación total.

En todas las poblaciones se han detectado unos valores de parentesco y consanguinidad menores o iguales a 0.20. El valor umbral de consanguinidad es la unidad. Un valor cercano a 1 derivaría en la consecuente depresión consanguínea, y llevaría a la población a la extinción. En una población que se reproduce al azar, los valores de consanguinidad y parentesco son bajos y muy próximos, como ocurre en este caso.

Se sabe que las poblaciones de salmón no constituyen grupos aislados, dada la existencia de flujo genético. Es por ello que se puede aplicar el término de “metapoblación”, es decir, una población constituida por varias subpoblaciones. Considerando el grupo de subpoblaciones de salmón de la costa gallega como una única metapoblación, se puede estimar la contribución en términos de diversidad genética de cada una de las subpoblaciones al *pull* total de la metapoblación. Los resultados (**tabla 6**) indican que el grupo de poblaciones del norte son más variables y heterogéneas que el

grupo sur, ya que al eliminarlas de la metapoblación total, se pierde variabilidad en todos los casos, contrariamente a lo que ocurre con el grupo norte. De todos modos, ya sea el signo positivo o negativo, el valor absoluto de ganancia o pérdida es bajo en todos los casos, indicativo de que a pesar de existir diferencias, éstas no son acusadas.



Determinación de la existencia de cuellos de botella

En Biología se dice que una población o especie ha sufrido una situación de cuello de botella cuando ha experimentado un drástico descenso en el número de miembros en algún momento del pasado, llegando en algunos casos a estar al borde de la extinción. Como consecuencia, los ejemplares de las generaciones posteriores al cuello de botella y la antigua proporción de alelos en el conjunto de la población han cambiado considerablemente.

La determinación de la existencia de cuellos de botella en las poblaciones analizadas se realizó mediante dos procedimientos que se corresponden con los obtenidos a partir del software Bottleneck (Cornuet y Luikart, 1996), uno de los cuales se basa en un método gráfico para estimar la evolución de los alelos poco frecuentes (Luikart y col., 1998b).

El fundamento teórico de la detección de cuellos de botella se basa en que ante un evento de este tipo, la pérdida de alelos se hace patente de forma más significativa que la pérdida de variabilidad. Por tanto, en una población que ha experimentado recientemente un cuello de botella, la diversidad genética observada es mayor que la que se esperaría en el equilibrio, para el número de alelos observado en la población. En función del tipo de modelo mutacional asumido, se puede o no detectar este exceso de variabilidad.

El programa calcula la probabilidad de que se haya producido un cuello de botella en la población bajo dos modelos mutacionales. El modelo de alelos infinito (IAM), y el modelo de mutación paso a paso (SMM). Existe un tercer modelo intermedio entre los anteriores (TPM) que asume que un porcentaje de las mutaciones sigue el modelo IAM y el porcentaje restante, el modelo SSM. Se sabe que para los microsatélites lo más correcto es suponer que el 90% de las mutaciones ocurren bajo el SSM y el 10% bajo el IAM.

La **tabla 7** muestra los resultados obtenidos tras la aplicación del programa. En dicha tabla se puede ver cómo el valor de la probabilidad se aleja más del valor límite en función del modelo mutacional.

Los valores de probabilidad para el modelo que nos interesa (TPM, en negro), indican la existencia de dos posibles cuellos de botella en las poblaciones del Lérez y Eo en el año 2005. Los cuellos de botella perduran en el tiempo, de modo que un cuello de botella detectado en una generación es raro no detectarlo en la generación siguiente.

Tabla 7. Resultados de probabilidad en la estimación de cuellos de botella. En negrita se indican los valores estadísticamente significativos.

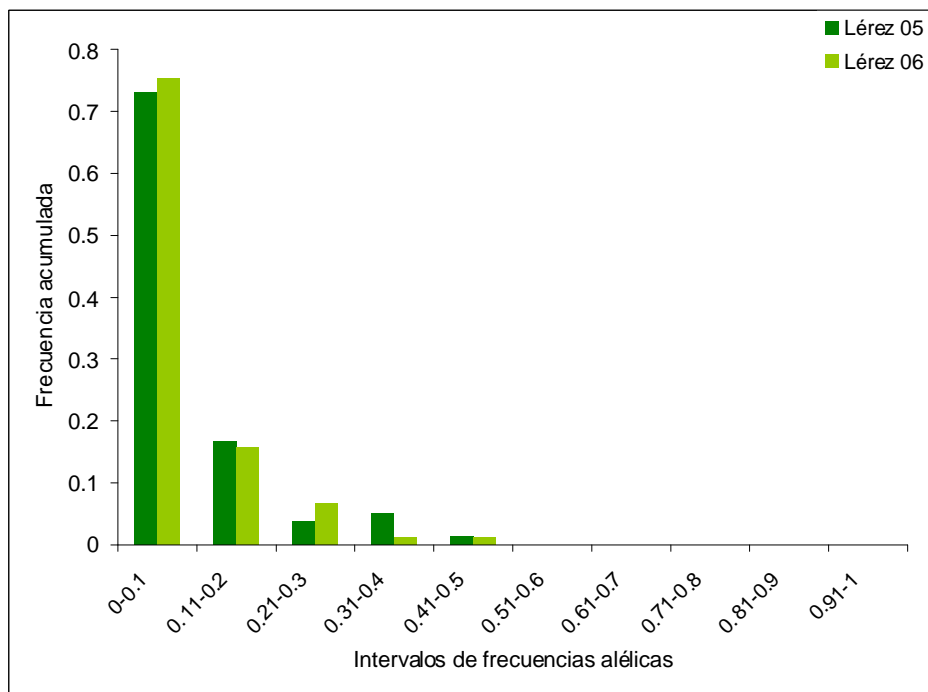
Río		<i>IAM</i>	<i>TPM</i>	<i>SMM</i>
Lérez				
	2005	0.031	0.047*	0.031
	2006	0.016	0.156	0.047
Ulla				
	2005	0.016	0.078	0.031
	2006	0.016	0.438	0.047
Tambre				
	2005	0.016	0.563	0.078
Masma				
	2005	0.016	0.844	0.438
	2006	0.016	0.844	0.563
Eo				
	2005	0.016	0.016*	0.016
	2006	0.016	0.109	0.031

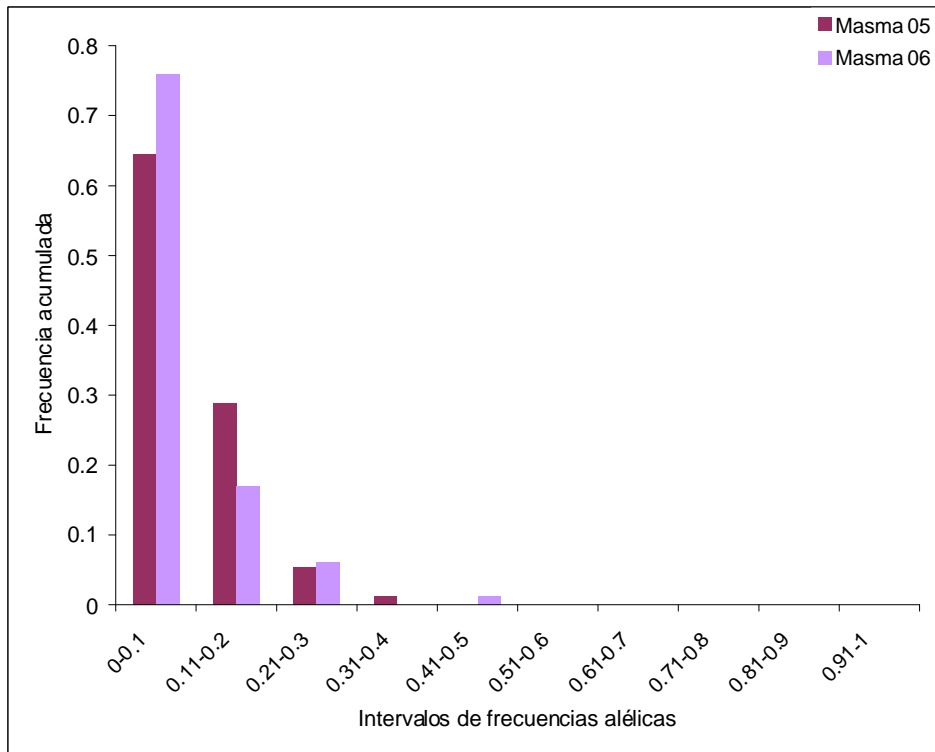
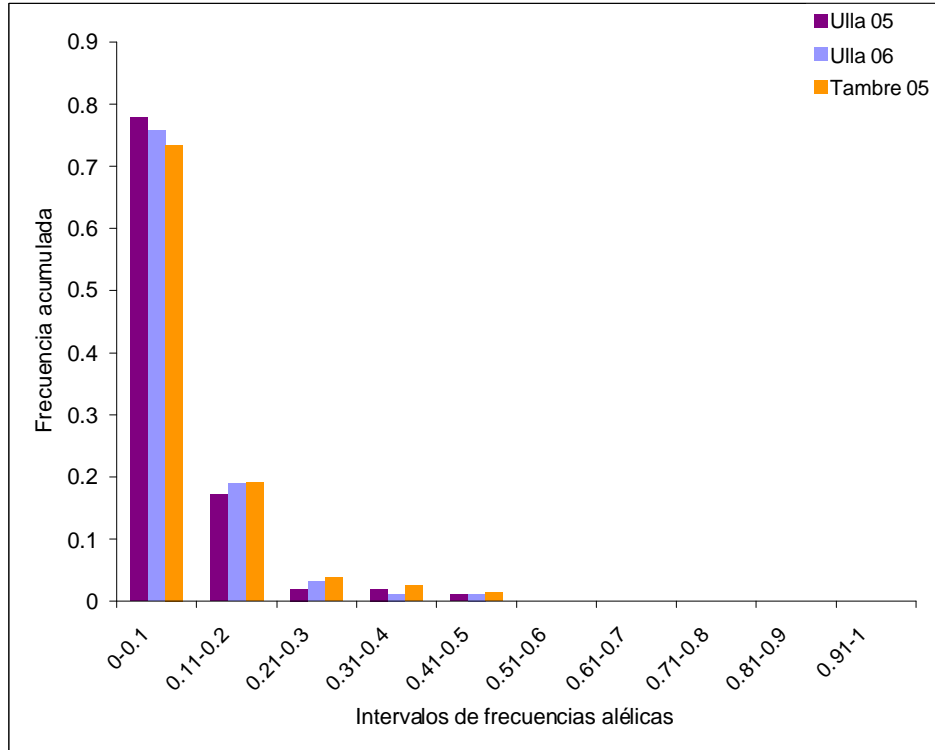
Para aclarar los resultados, se realizó la estimación de la existencia de cuellos de botella mediante el método gráfico de Luikart y Cornuet (1998b). Este método, incluido también dentro del software Bottleneck, es de gran utilidad para visualizar la existencia de cuellos de botella recientes pese a que es un método cualitativo y no cuantitativo. Se basa en una representación gráfica, donde el eje X corresponde a las frecuencias de los alelos en las poblaciones dentro de unos intervalos delimitados, mientras que el eje Y se corresponde con la frecuencia relativa de dicho intervalo de frecuencias alélicas. De esta forma se puede comprobar dentro de qué rango de frecuencias se incluyen la mayoría de los alelos que existen. Como los cuellos de botella eliminan principalmente los alelos poco frecuentes (0-0,1), un déficit de ellos en la gráfica implicaría una reducción en el censo efectivo poblacional. De la misma forma, si la muestra presenta mayoría de alelos poco frecuentes (forma de la gráfica típica en *L*) significaría que no ha sufrido una regresión reciente y

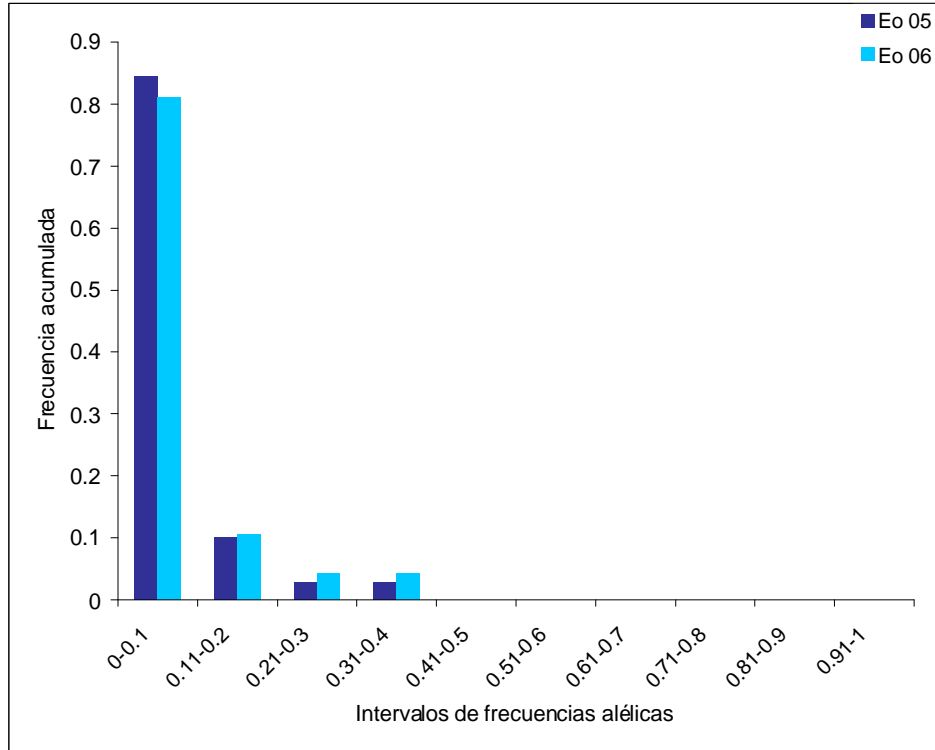
brusca en su censo efectivo.

La representación de las frecuencias alélicas de cada río por separado, muestra una distribución típica en L en todas las poblaciones excepto en el río Masma (**figura 6**). Como se comentó anteriormente, un cuello de botella elimina principalmente los alelos poco frecuentes. Tanto la población del Lérez 2005 como la del Eo 2005, presentan una alta frecuencia acumulada de alelos poco frecuentes. Este método, por tanto, no detecta cuellos de botella que hayan perdurado hasta el momento del muestreo en estas dos poblaciones. El resultado “redondeado” de la gráfica del río Masma, se podría explicar por el tamaño reducido su población, ya que el método de modelos mutacionales no detecta la existencia de reducción en el censo efectivo de la población.

Figura 6. Método gráfico de Luikart y Cornuet. Cada figura representa las dos muestras temporales de cada río. El río Tambre se ha representado con el Ulla por tener evidencias de tratarse de la misma población.







Diferenciación poblacional

⊖ *El estadístico F_{ST}*

Con objeto de determinar cuán parecidas o diferentes son las poblaciones, hemos llevado a cabo un análisis de estructuración poblacional, a través del índice F_{ST} (**tabla 8**). El estadístico F_{ST} puede tomar valores entre 0-1. Un valor próximo a 0 indica que las poblaciones son muy homogéneas en cuanto a su composición genética (es decir, que se trata de una única población), y un valor cercano a 1 indica que hay una gran estructuración poblacional.

Se realizaron diferentes tests en función del criterio de agrupación con objeto de obtener valores del índice F_{ST} indicativos del tipo de estructuración poblacional:

- 1 En primer lugar se clasificaron los individuos en función del río, año y procedencia (estación de captura o pesquería). Este apartado se explica en las **tablas 8.A.1, A.2 y A.3**.
- 2 En segundo lugar se agruparon los individuos atendiendo al río del que proceden y año de retorno (**tabla 8.B**).
- 3 En tercer lugar se diferenció dentro de cada río, los individuos cuyo origen es salvaje y aquellos físicamente marcados como procedentes del programa de repoblación (**tablas 8.C.1 y C.2**).
- 4 Por último, se realizó un test global agrupando los individuos únicamente en función del río de origen (**tablas 8.C.3**).

Tabla 8. F_{ST} entre pares de poblaciones. Los ríos se representan con su inicial y el año de entrada al río. Se simboliza “S” o “R” en función de si el origen de las muestras es salvaje o de repoblación. Se muestra el valor del estadístico para aquellas comparaciones significativas; *ns*, no significativo. Los valores con asterisco se encuentran en el umbral de significación.

A. 1 Tabla resumen. Las categorías poblacionales están clasificadas en función de río, año y procedencia (estación de captura o pesquería). Los ríos se simbolizan mediante iniciales. Se utiliza “C” o “P” para indicar si las muestras proceden de estación de captura o pesquerías, respectivamente.

	L 06	U 05 C	U 05 P	U 06 C	U 06 P	T 05	Ms 05	Ms 06	Eo 05	Eo 06
L 05	<i>ns</i>	0.018	<i>ns</i>	0.011	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.030	0.030	0.036	0.036
L 06		0.008	<i>ns</i>	0.006	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.022	0.023	0.026	0.027
U 05 C			<i>ns</i>	0.004	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.019	0.025	0.019	0.02
U 05 P				<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.027*	0.029	0.026	0.024
U 06 C					<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.026	0.028	0.022	0.021
U 06 P						<i>ns</i>	0.021	0.030	0.025	0.024
T 05							0.019*	0.023	0.016	0.016
Ms 05								<i>ns</i>	0.017	0.021
Ms 06									0.015	0.016
Eo 05										<i>ns</i>

A. 2. Valores de F_{ST} donde se comparan los salmones recogidos en las estaciones de captura de los ríos Lérez y Ulla durante los años 2005 y 2006.

	Lérez 06	Ulla 05 C	Ulla 06 C
Lérez 05	0.005*	0.018	0.011
Lérez 06		0.008	0.006
Ulla 05 C			0.004

A. 3. Valores de F_{ST} donde se comparan los salmones capturados en las temporadas de pesca 2005 y 2006 en los ríos Ulla, Masma y Eo. También se incluyen los salmones capturados en el río Tambre durante el año 2005.

	Ulla 06 P	Tambre 05	Masma 05	Masma 06	Eo 05	Eo 06
Ulla 05 P	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.027	0.029	0.026	0.024
Ulla 06 P		<i>ns</i>	0.021	0.030	0.025	0.024
Tambre 05			0.019	0.023	0.016	0.016
Masma 05				<i>ns</i>	0.017	0.021
Masma 06					0.015	0.016
Eo 05						<i>ns</i>

B. Valores de F_{ST} donde se comparan todos los salmones analizados de los ríos Lérez, Ulla, Tambre, Masma y Eo. Clasificados en función del año de entrada en el río, 2005 y 2006.

	L06	U 05	U 06	T 05	Ms05	Ms06	Eo05	Eo06
L 05	0.005*	0.017	0.010	<i>ns</i>	0.030	0.030	0.036	0.036
L06		0.008	0.006	<i>ns</i>	0.022	0.023	0.026	0.027
U 05			0.003	<i>ns</i>	0.020	0.026	0.020	0.020
U 06				<i>ns</i>	0.025	0.029	0.022	0.021
T 05					0.019	0.023	0.016	0.016
Ms05						<i>ns</i>	0.017	0.021
Ms06							0.015	0.016
Eo05								<i>ns</i>

C.1. Valores de F_{ST} donde se comparan los salmones de retorno de los ríos Ulla y Lérez agrupados en función de río, año y origen (salvaje o repoblación). Comparaciones entre salvajes y repoblados del mismo río y año, en negro.

	L 05-R	L 06-S	L 06-R	U 05-S	U 05-R	U 06-S	U 06-R
L 05-S	0.032*	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
L 05-R		0.013*	0.012*	0.030	0.029	0.026	0.013
L 06-S			<i>ns</i>	0.007	<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.012
L 06-R				0.010	0.010	0.008	0.009*
U 05-S					<i>ns</i>	<i>ns</i>	0.009
U 05-R						<i>ns</i>	0.011
U 06-S							0.010

C.2. . Valores de F_{ST} donde se comparan los salmones de retorno de los ríos Ulla y Lérez clasificados en función de río y origen (salvaje o repoblación).

	Lérez R	Ulla S	Ulla R
Lérez S	0.005*	<i>ns</i>	0.007
Lérez R		0.014	0.008
Ulla S			0.003

C.3. . Valores de F_{ST} global para los cinco ríos.

	Ulla	Tambre	Masma	Eo
Lérez	0.007	<i>ns</i>	0.024	0.029
Ulla		<i>ns</i>	0.025	0.020
Tambre			0.022	0.016
Masma				0.016

Los resultados indican que las diferencias más evidentes ocurren entre los ríos de la vertiente atlántica y la vertiente cantábrica, ya que es en estas comparaciones cuando los valores del índice son más altos. Se han detectado también diferencias significativas entre los grupos de las estaciones de captura para todos los pares de comparaciones, pero los valores de F_{ST} son muy bajos (0.004 - 0.0018).

El parecido entre Ulla y Lérez se debe fundamentalmente a las repoblaciones, ya que durante este proceso hay mezcla de individuos de ambos ríos, pero también puede deberse a eventos de migración. Dada la proximidad entre ambos ríos, es posible y probable que durante el retorno de los adultos a su río de origen se “equivoken” (en inglés *straying*). Existen estimas de tasa de migración y fidelidad de retorno al río natal calculadas a partir de lectura de micromarcas que determinan un 18-23% de inmigración en estos ríos (Caballero, 2002). Algo similar debe ocurrir entre Masma y Eo, a la vista de los valores de F_{ST} , cuya proximidad geográfica es de la misma magnitud que entre Ulla y Lérez.

Agrupando los datos por río, se observa que existen diferencias significativas entre todos ellos, excepto el río Tambre, cuya población no se distingue de la del Ulla y la del Lérez. Sin embargo, el estadístico toma valor 0 en la comparación Ulla-Tambre, y valor 0.003 (dato no mostrado) en la comparación con el Lérez, por lo que nos hace pensar que la población del Tambre es una subpoblación del río Ulla.

No se observa un patrón concreto que explique los resultados en las comparaciones entre individuos salvajes y aquellos procedentes de repoblación. Las diferencias que se observan son más atribuibles a las características intrínsecas de las poblaciones que a su propio origen.

Es importante destacar que aunque en el río Lérez ya existen individuos que podemos denominar salvajes, la población inicial fundadora se originó en su totalidad (al menos virtualmente) mediante repoblaciones. Esta población inicial fue creada con una mezcla de individuos de diferentes ríos gallegos, en la que predominaban mayoritariamente individuos del río Ulla.

⊕ Test de asignación

Para verificar los datos de estructuración poblacional, se realizó un test de asignación mediante el programa GENECLASS. Este software permite asignar individuos a poblaciones utilizando para ello diferentes métodos. En este caso hemos utilizado un método basado en las frecuencias alélicas (Paetkau, 1995). Los resultados se muestran en la **tabla 9**.

Tabla 9. Test de asignación. % c: individuos correctamente asignados a su población de procedencia.

A. Poblaciones desglosadas.

	L 05	L06	U 05	U 06	T 05	Ms 05	Ms 06	Eo 05	Eo 06
L 05	20	17	20	37	10	0	0	4	5
L06	7	36	23	25	3	1	1	5	4
U 05	5	11	50	30	11	0	1	15	2
U 06	5	14	31	66	8	3	0	4	4
T 05	7	6	22	36	5	1	1	9	5
Ms 05	2	3	9	4	0	5	9	7	2
Ms 06	0	2	3	7	1	8	13	10	2
Eo 05	1	2	10	8	3	1	4	92	41
Eo 06	2	2	14	10	2	1	6	77	54
Total	49	93	182	223	43	20	35	223	119
obs	20	36	50	66	5	5	13	92	54
esp	5.44	10.33	20.22	24.78	4.78	2.22	3.89	24.78	13.22
% c	40.8	38.7	27.5	29.6	11.6	25	37.1	41.3	45.4
χ^2	38.97*	63.79*	43.86*	68.57*	0.01	3.48	21.33*	182.35*	125.79*

B. Ríos.

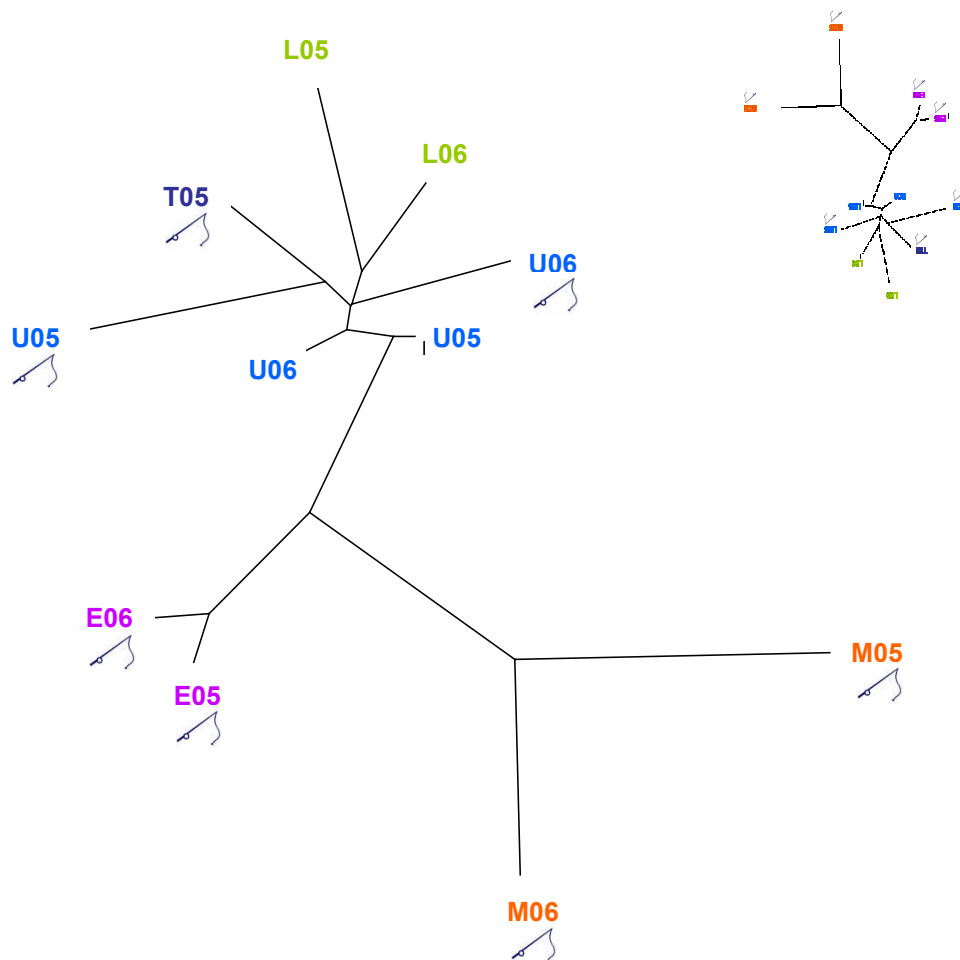
	Lérez	Ulla	Tambre	Masma	Eo
Lérez	80	105	13	2	18
Ulla	35	177	19	4	25
Tambre	13	58	5	2	14
Masma	7	23	1	35	21
Eo	7	42	5	12	264
Total	142	405	43	55	342
obs	80	177	5	35	264
esp	28.4	81	8.6	11	68.4
% c	56.3	43.7	11.6	63.6	77.2
χ^2	93.75*	113.78*	1.51	52.36*	559.35*

Las columnas se indican las poblaciones estudiadas y las filas, las poblaciones a las que se asignan los individuos evaluados. Así, las diagonales (resaltadas con recuadro) corresponden al número de individuos asignados correctamente al río al que pertenecen. La hipótesis de partida (hipótesis nula) es que no existen diferencias significativas entre las poblaciones de los ríos, por lo que esperamos que exista el mismo número de individuos de cada población de cada río. El resultado del test de Chi-cuadrado se indica en la **tabla 9**. La hipótesis nula se rechaza (asterisco) en todos los casos, excepto en las poblaciones de Tambre y Masma 2005, lo que significa que las asignaciones no siguen un patrón aleatorio en las poblaciones en que la hipótesis nula no se acepta. Para comprender esto mejor, se agruparon los resultados de asignación por ríos (atendiendo a los resultados previos del análisis de F_{ST}). Lo que se observa es que el test Chi-cuadrado fue significativo en todos los casos excepto en el río Tambre (el resultado no significativo observado previamente en la población del Masma 2006 es explicable de nuevo por el reducido tamaño de dicha población, que hace que el test pierda potencia). Es decir, que en los ríos Lérez, Ulla, Masma y Eo, la asignación de individuos a poblaciones no es aleatoria, sino que cada población (en este caso, río) tiene unas características determinadas diferentes a las demás poblaciones. El porcentaje de individuos correctamente asignado oscila entre el 43.7 y el 77.2%, proporción que dista mucho del 20% esperado en caso de que las poblaciones fuesen homogéneas. Con respecto al río Tambre, la mayoría de sus individuos (19) son asignados al río Ulla, con lo que se demuestra una vez más que la población detectada de forma anecdótica en el río Tambre, no es más que una “subpoblación” del río Ulla.

⊕ Relaciones filogenéticas

Para visualizar gráficamente las relaciones filogenéticas existentes entre las distintas poblaciones analizadas, se construyó un dendograma *Neighbour-joining* basado en las distancias genéticas (distancia D_A de Nei, 1983) (**figura 7**).

Figura 7. Representación de las distancias entre poblaciones mediante un dendograma basado en la distancia D_A de Nei (1983). Las muestras capturadas durante la temporada de pesca las señaladas con caña. A la derecha, imagen especular.



Como se puede observar en el dendograma, las poblaciones de los ríos Eo y Masma (vertiente cantábrica) forman parte del mismo cluster, y se encuentran físicamente más alejadas del cluster Lárez-Ulla-Tambre. Es también gráficamente intuitivo que las poblaciones de la vertiente atlántica se parecen más entre sí que aquellas de la vertiente cantábrica, donde las longitudes de rama más largas indican que las poblaciones se encuentran más distanciadas genéticamente.

Los resultados derivados de este análisis son completamente coherentes con los anteriores resultados aplicando diferentes métodos. Además, la correlación existente entre la distancia geográfica y la distancia genética al comparar el dendograma con un mapa de **Galicia (figura 8)**, es indicativo de que, en mayor o menor grado, existe cierto asilamiento por distancia.

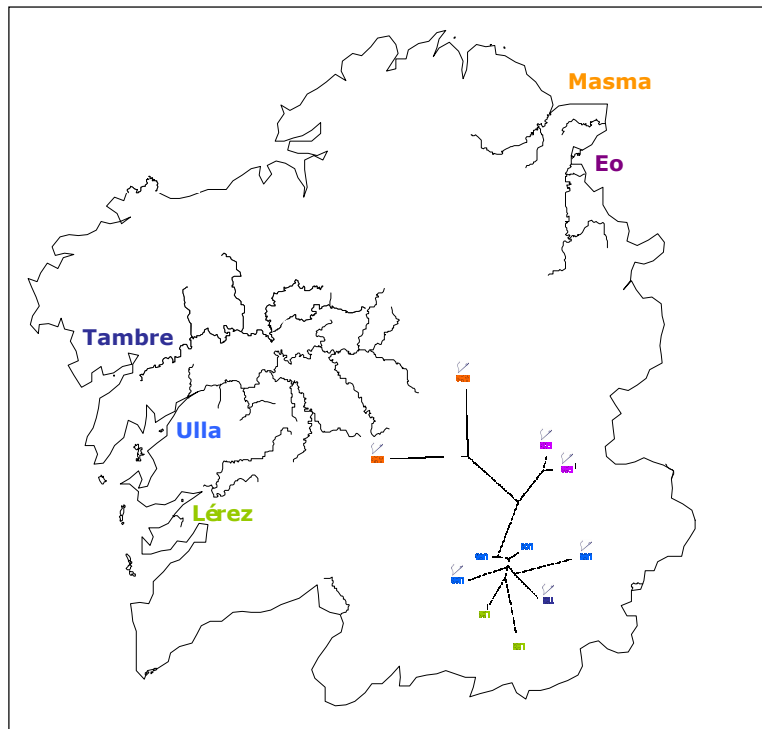


Figura 8. Mapa de Galicia y ríos analizados en este estudio.

Conclusiones

1. Los resultados derivados de los análisis de variabilidad indican que no existen diferencias significativas en cuanto a heterocigosis observada y riqueza alélica, entre todas las poblaciones estudiadas. Los valores de heterocigosis son altos y el número de alelos observado en la población de mayor tamaño (223 individuos) es 18.2. Teniendo en cuenta que la riqueza alélica es un valor corregido y que no existen diferencias entre los grupos, se puede decir que estas poblaciones tienen una diversidad alélica bastante elevada. La población que ha mostrado mayor variabilidad es el Masma 2005.

2. Los valores de parentesco y consanguinidad molecular son bastante reducidos (se sitúan por debajo de 0.2), y el incremento de consanguinidad de una población a la siguiente es, en general, bastante bajo, llegando en alguna de las poblaciones a disminuir de un año a otro. Considerando las poblaciones gallegas una única metapoblación, se observa que al eliminar del grupo las poblaciones del norte se pierde diversidad, mientras que ocurre lo contrario con las poblaciones del sur. Este fenómeno se debe a que las poblaciones del sur son más homogéneas. El río Masma es, de nuevo, el que más contribuye a la diversidad total.

3. Se han detectado cuellos de botella en las poblaciones de los ríos Lérez y Eo en el año 2005 con el método de modelos mutacionales (en el río Lérez la probabilidad se encuentra en el Umbral de significación). Sin embargo, el método gráfico no revela pérdida de alelos que se encuentran a bajas frecuencias (como cabría esperar de existir un cuello de botella). Además, no se detectaron cuellos de botella en las poblaciones de esos ríos en la siguiente generación, para ninguno de los métodos utilizados. Parece ser que el método mutacional es capaz de detectar cuellos de botella que han ocurrido en estas poblaciones en el pasado, pero que se han recuperado en el presente, por lo que el método gráfico no los detecta. El incremento reciente en el número de individuos (más evidente en el río Eo) y los altos niveles de diversidad genética sugieren que estas poblaciones no se encuentran demasiado afectadas por el decline histórico en su tamaño y se están recuperando de manera satisfactoria.

4. El análisis de estructura poblacional revela que existen diferencias entre todos los ríos

estudiados, excepto la población del río Tambre, que parece tratarse de una subpoblación del río Ulla. Se observa una diferenciación general entre las poblaciones del norte y las del sur de Galicia, pareciéndose más entre ellas las del sur que las del norte. El río Masma es el que presenta valores de F_{ST} más elevados al compararlo con el resto de poblaciones.

5. El test de asignación asigna correctamente los individuos a su río de origen de forma significativa, excepto en el caso de los individuos del río Tambre, que se asignan en un 86% a los ríos Ulla y Lérez. Sin embargo, todo parece indicar que la población del río Tambre es una subpoblación del río Ulla, ya que no sólo asigna sus individuos de manera mayoritaria a este río, sino que el valor de F_{ST} es más bajo al compararlo con el río Ulla que con el Lérez.

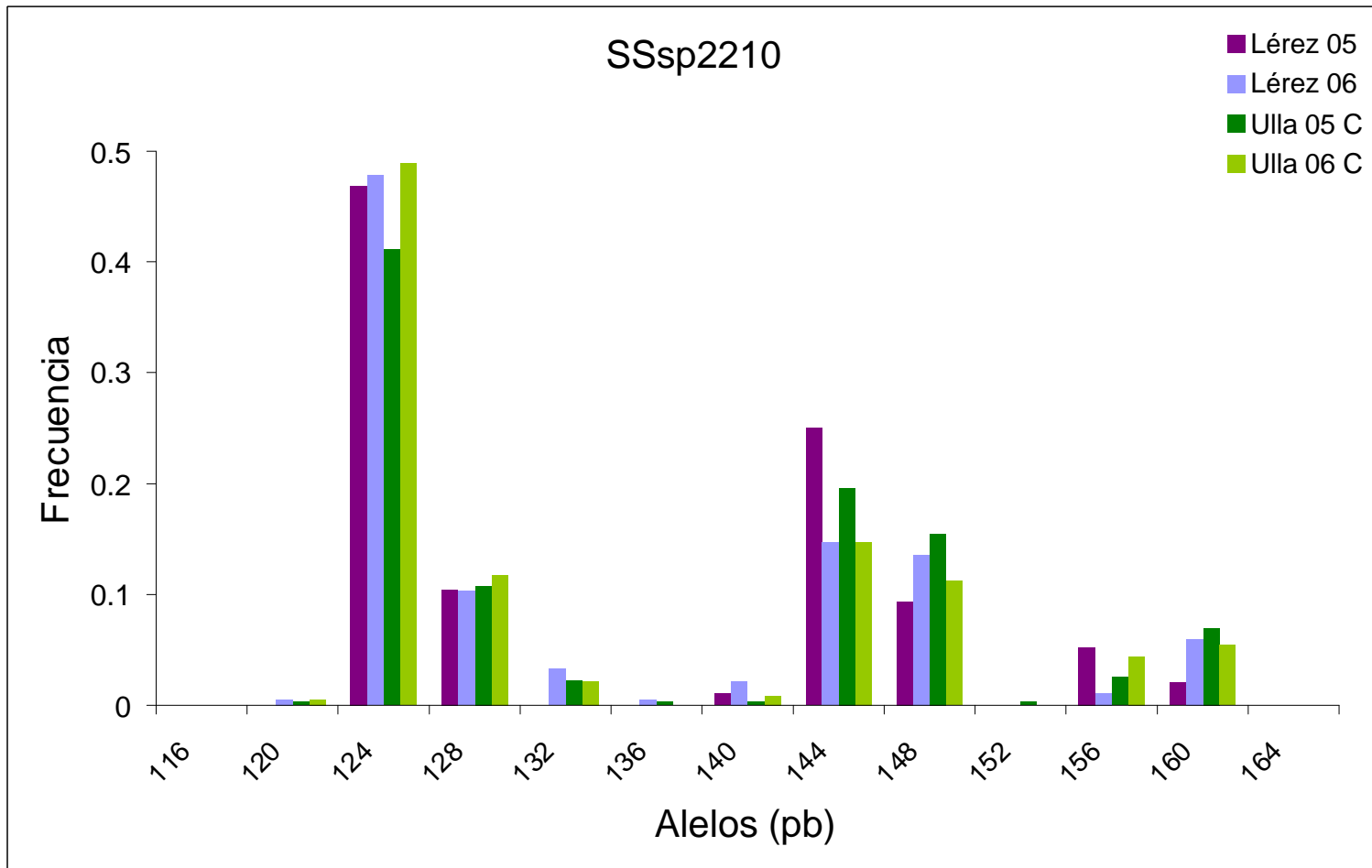
6. El dendograma generado a partir de la matriz de distancias genéticas sitúa a las poblaciones del sur dentro del mismo cluster, separadas de las poblaciones del norte, algo más alejadas entre ellas. Las poblaciones del río Masma son las más diferenciadas del resto de poblaciones. Sería muy interesante realizar un estudio, de mayor profundidad en este río.

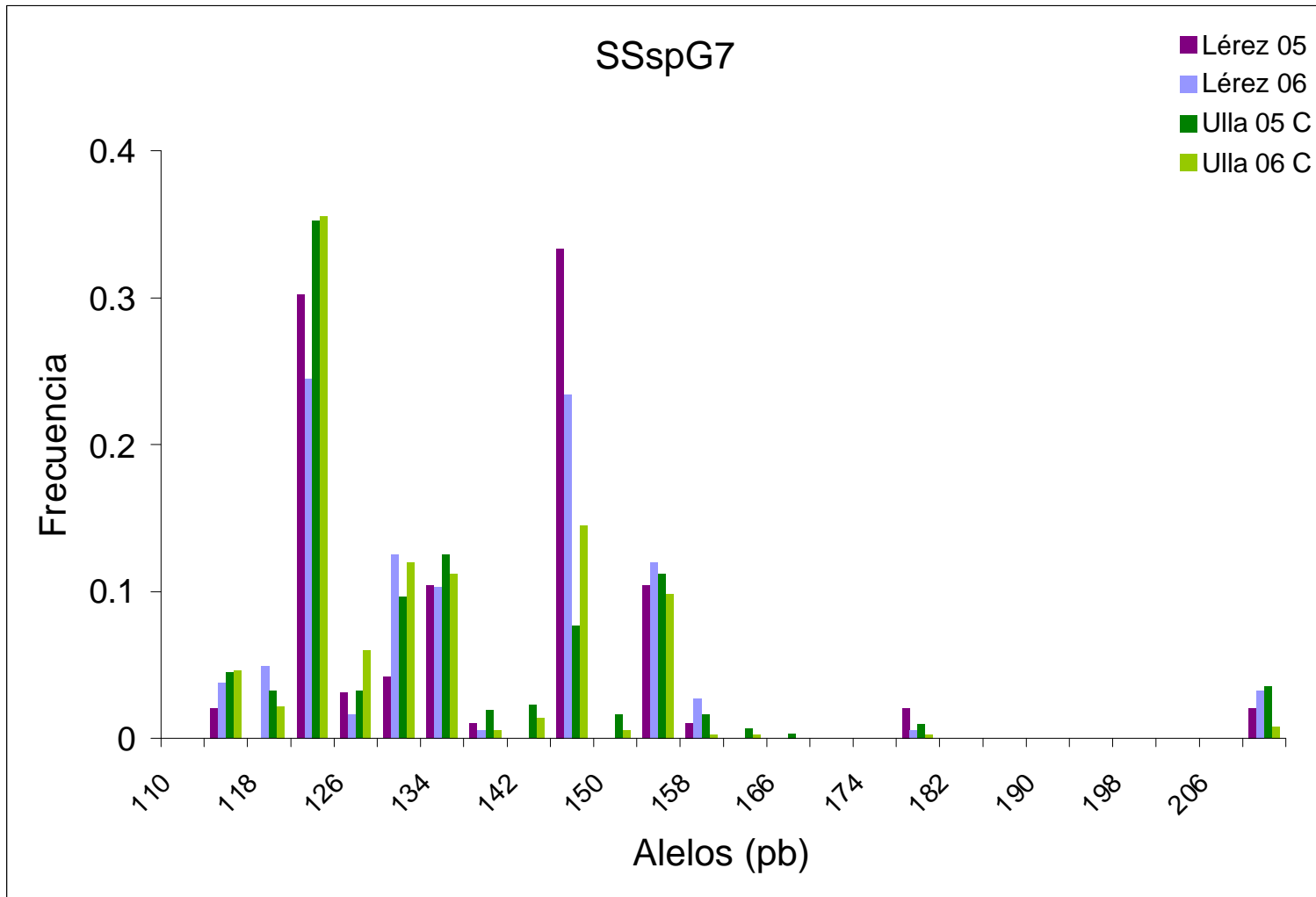
A modo de resumen, decir que las poblaciones de salmón Atlántico de los ríos gallegos mantienen una variabilidad genética bastante elevada, y una reducida consanguinidad, por lo que la gestión de las poblaciones parece ser que se está realizando de forma correcta. Sin embargo, a pesar de que las poblaciones se están recuperando de manera satisfactoria, el censo demográfico de algunos ríos (sobre todo en el río Lérez), es todavía bajo, por lo que además de continuar con el programa de repoblación, sería una medida muy deseable eliminar o reducir las cuotas de pesca temporalmente. De este modo, se estaría invirtiendo en el futuro de esta especie tan abundante en el pasado en el norte de la Península.

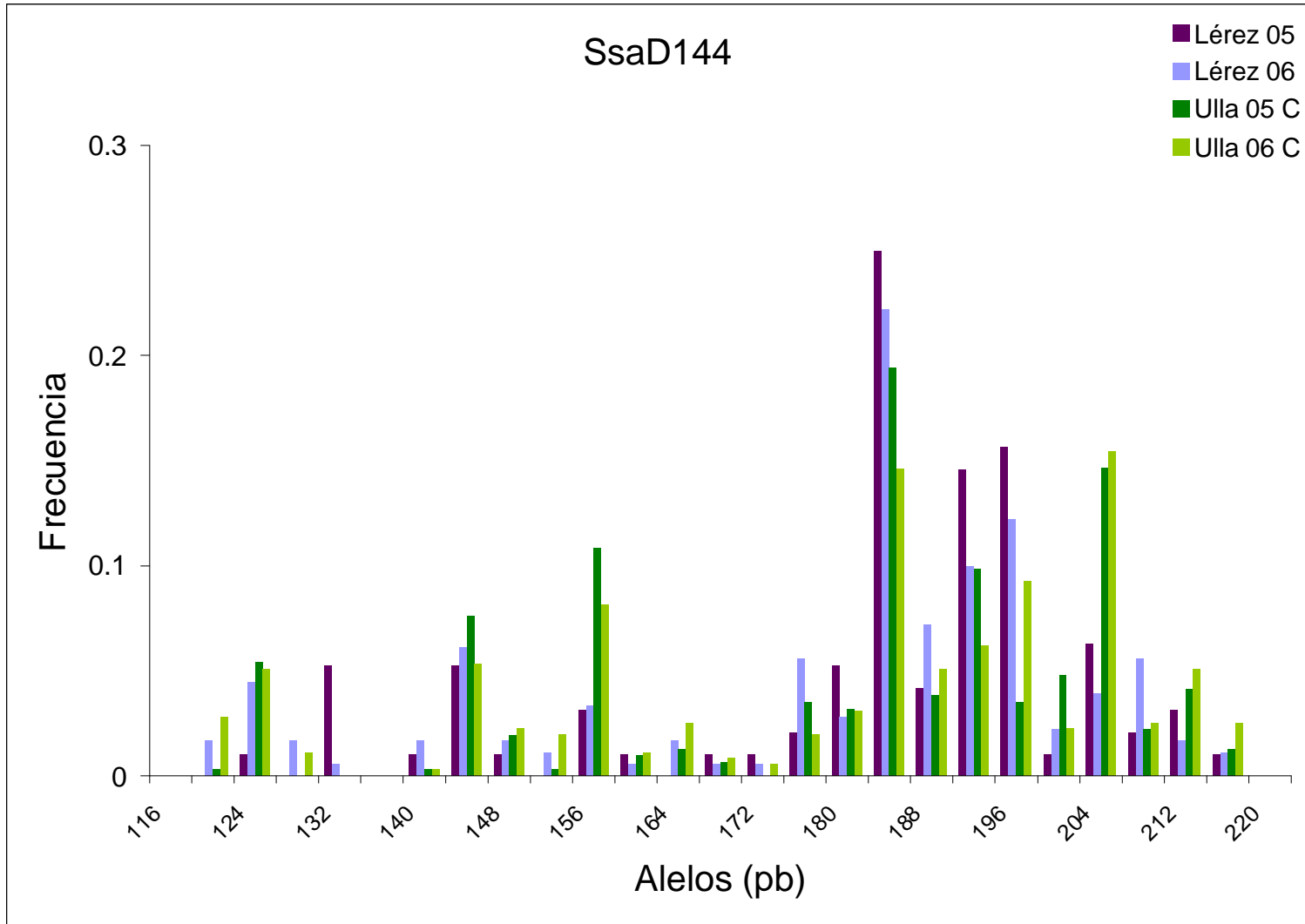
APÉNDICE 1

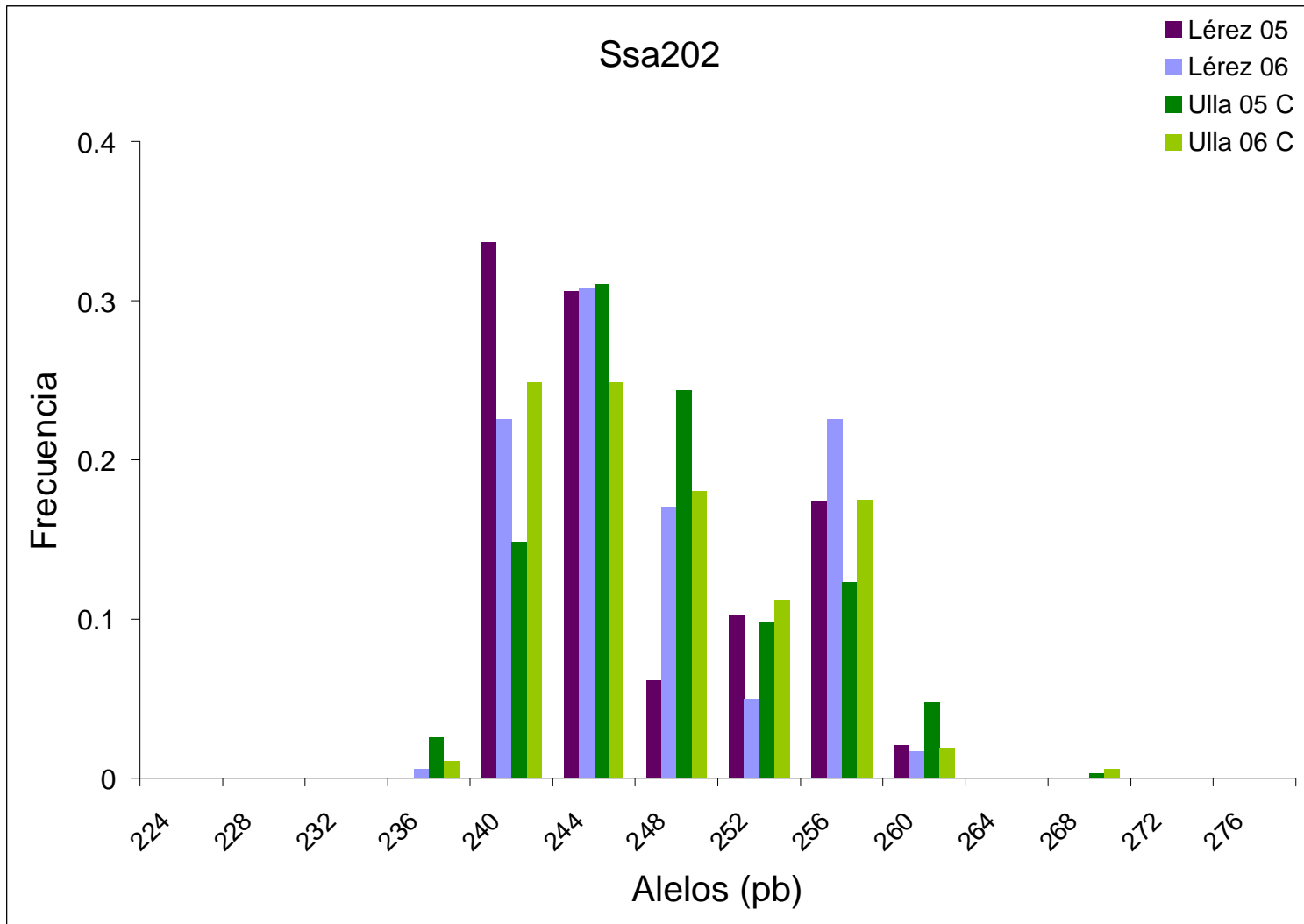
Figura 9. Representación de las frecuencias alélicas por locus y población. En el eje de las X se indica en tamaño en pares de bases de los alelos de cada locus.

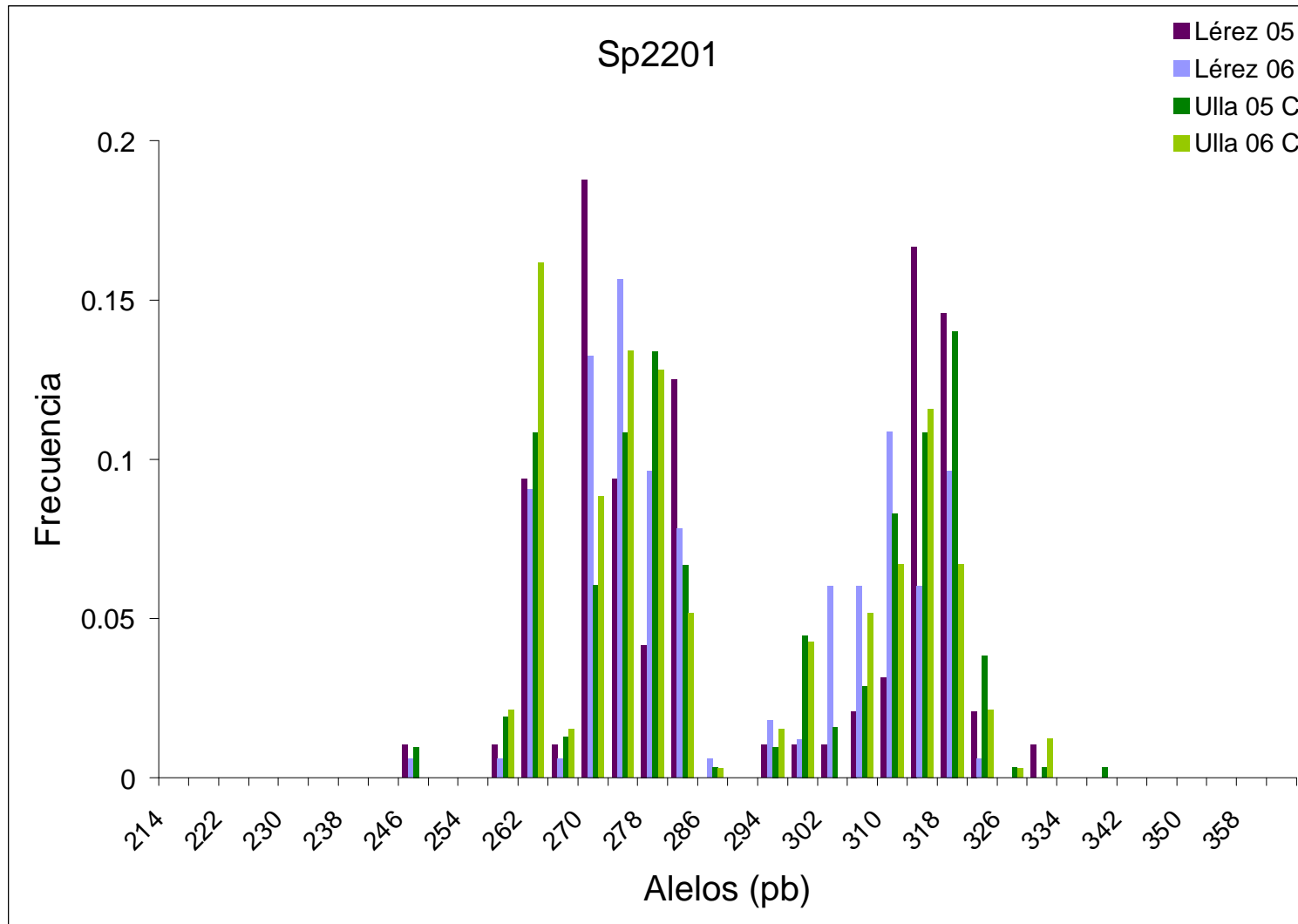
A. Muestras correspondientes a las estaciones de captura.

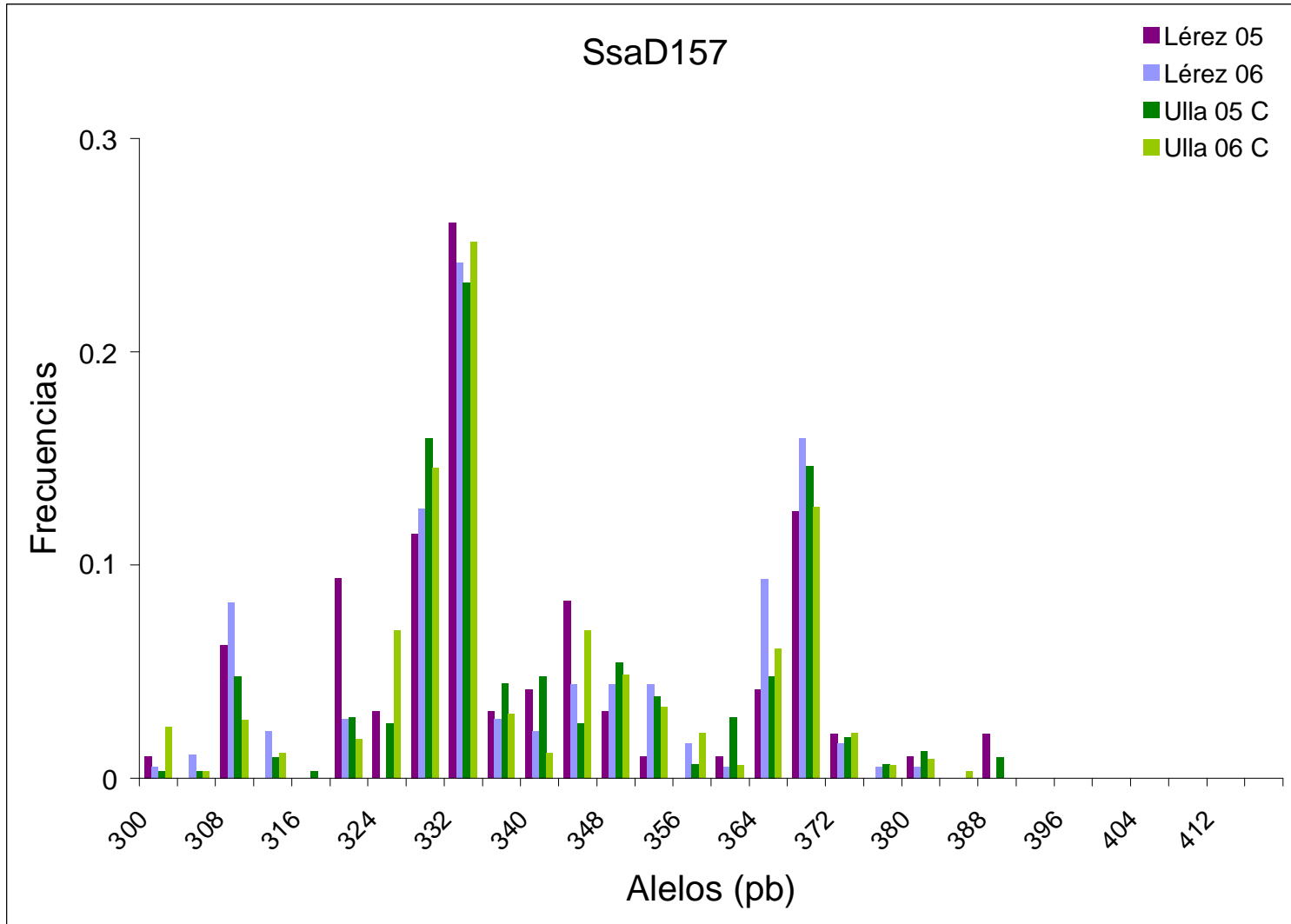




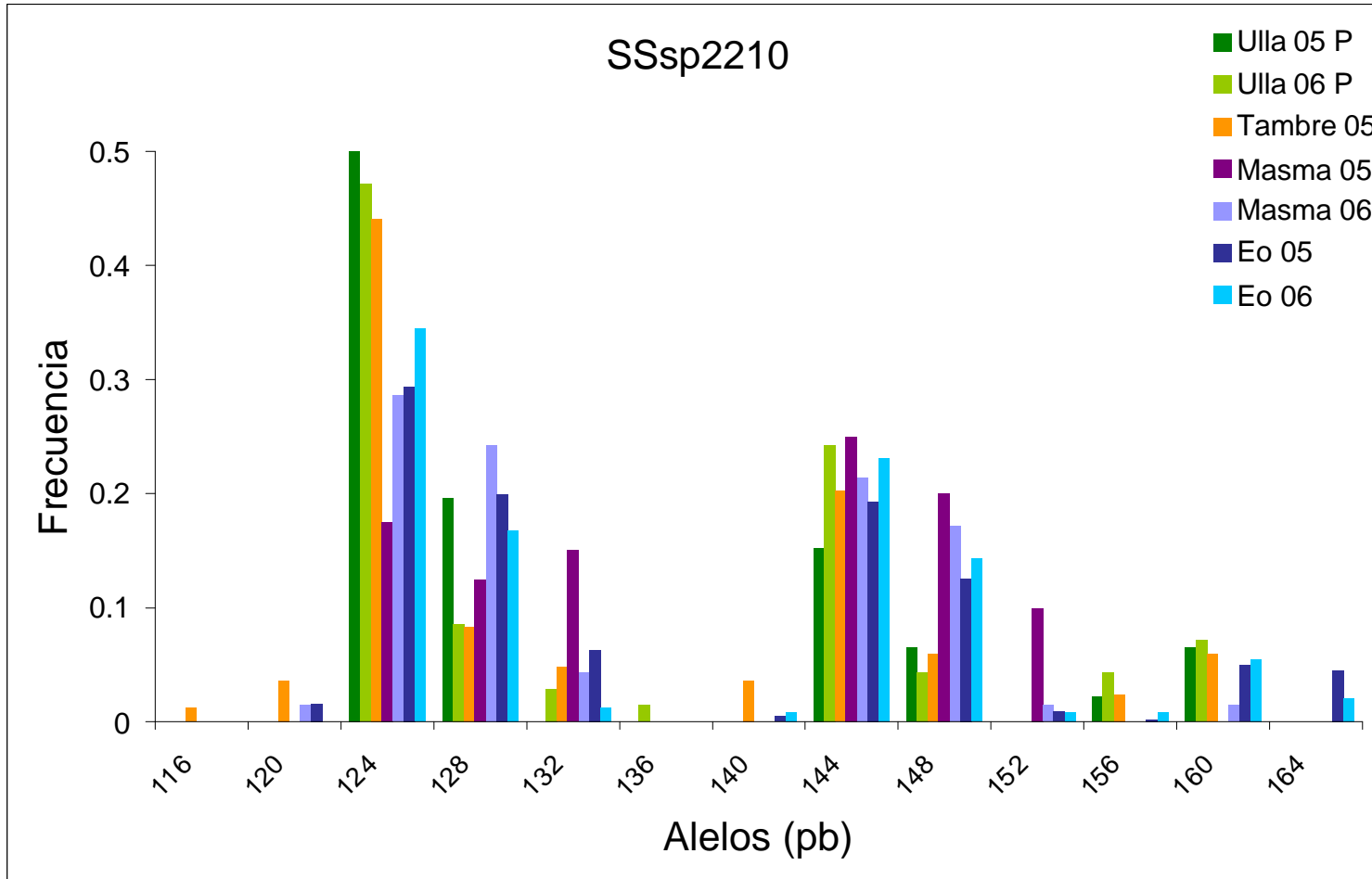


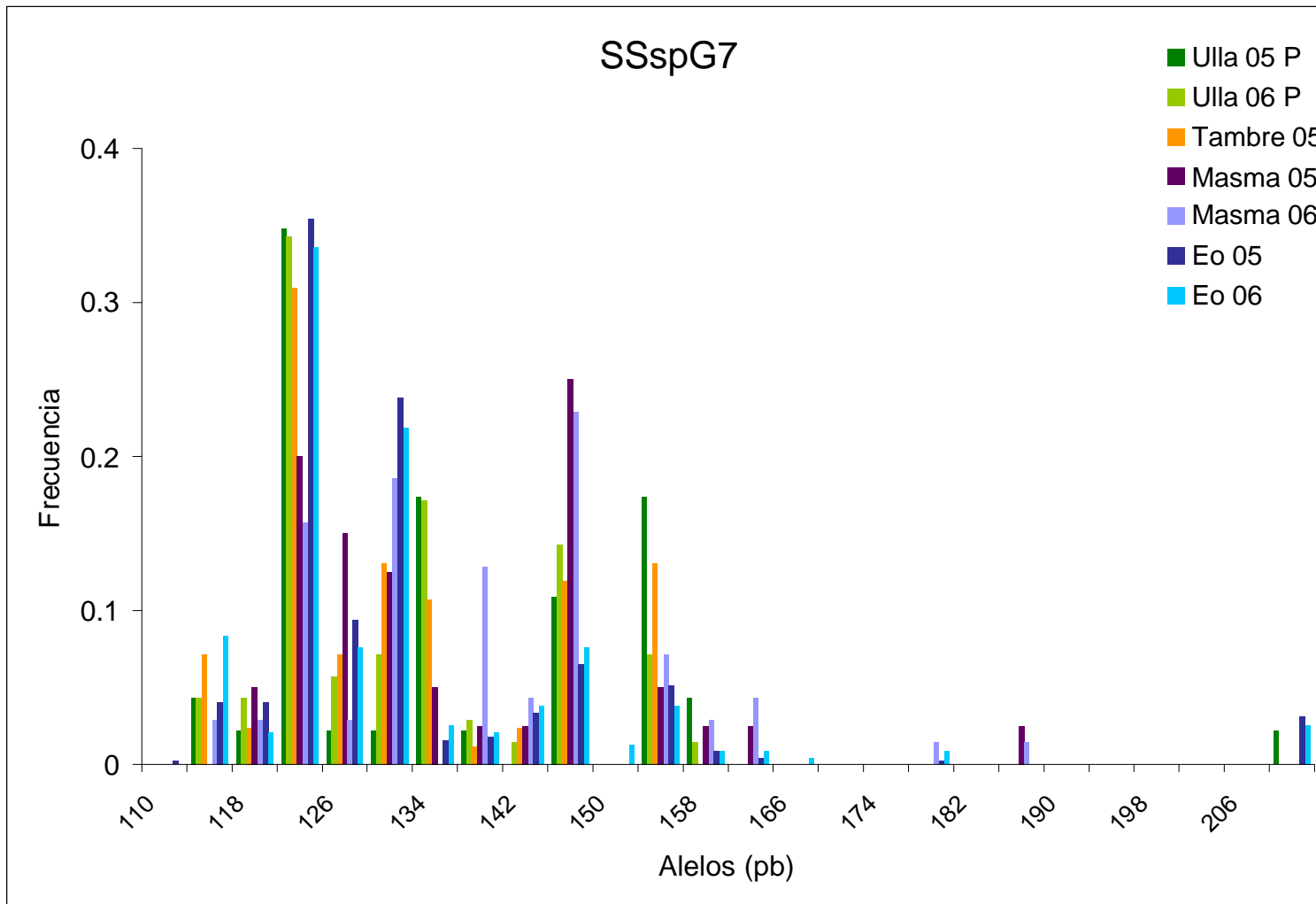


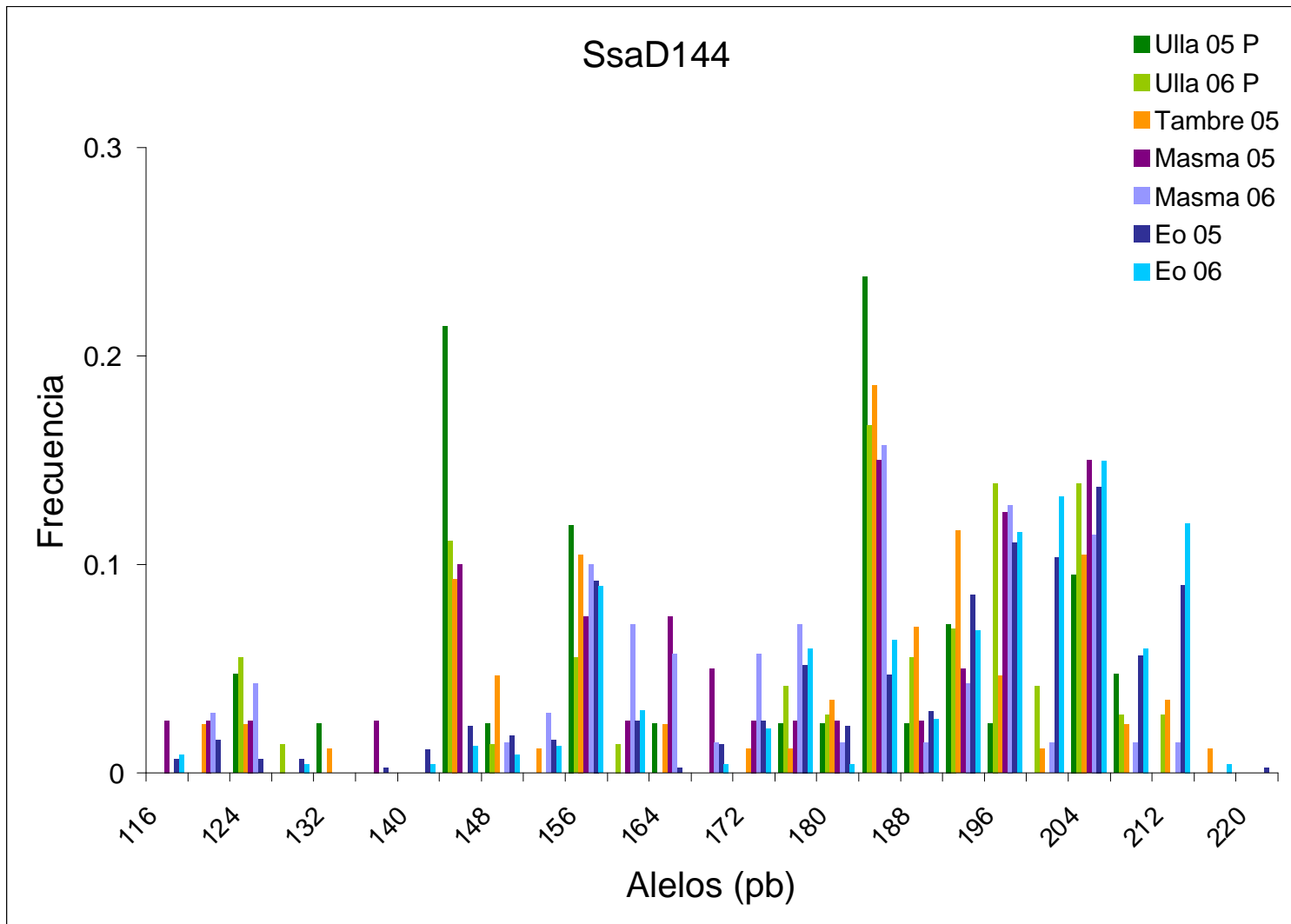


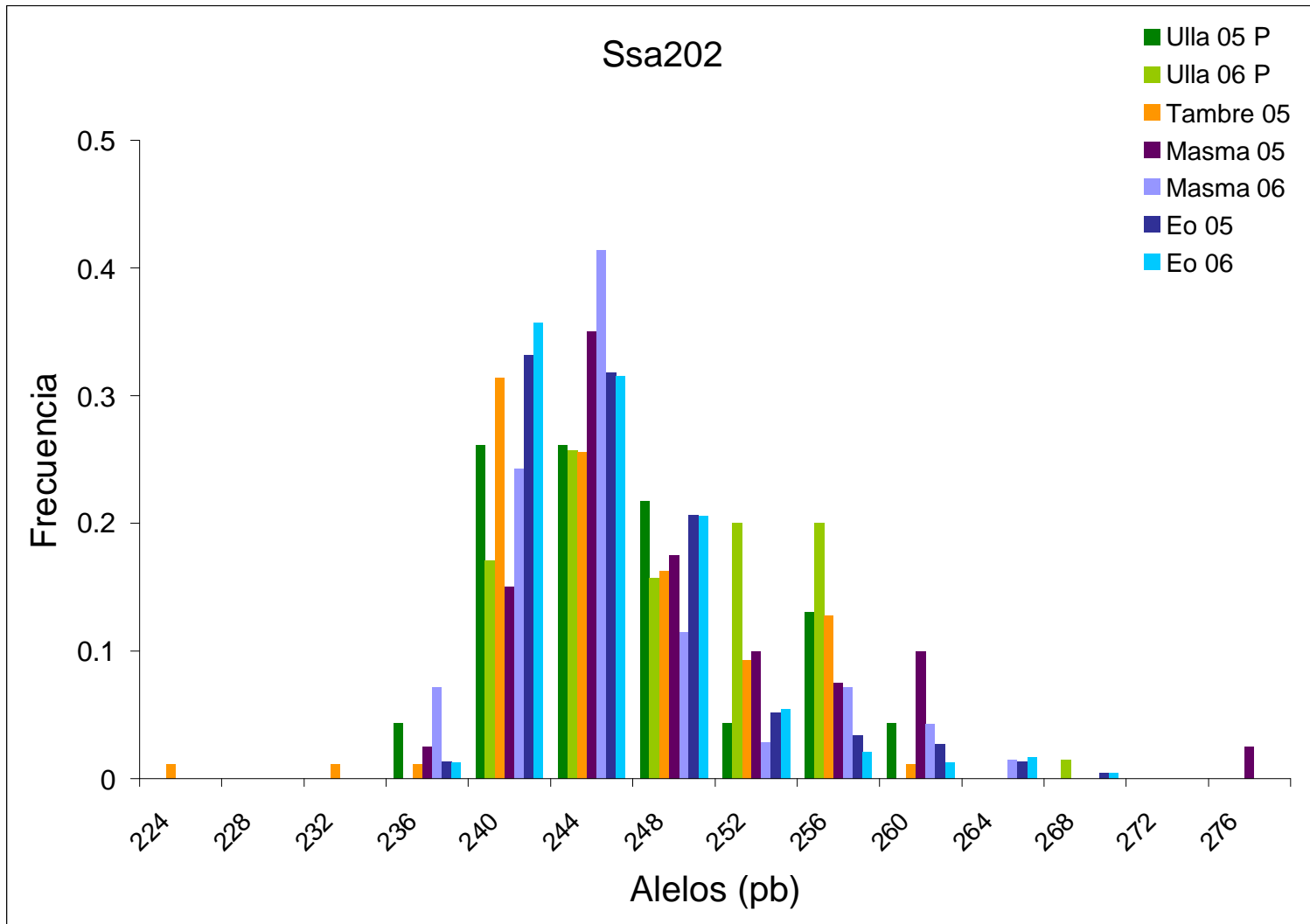


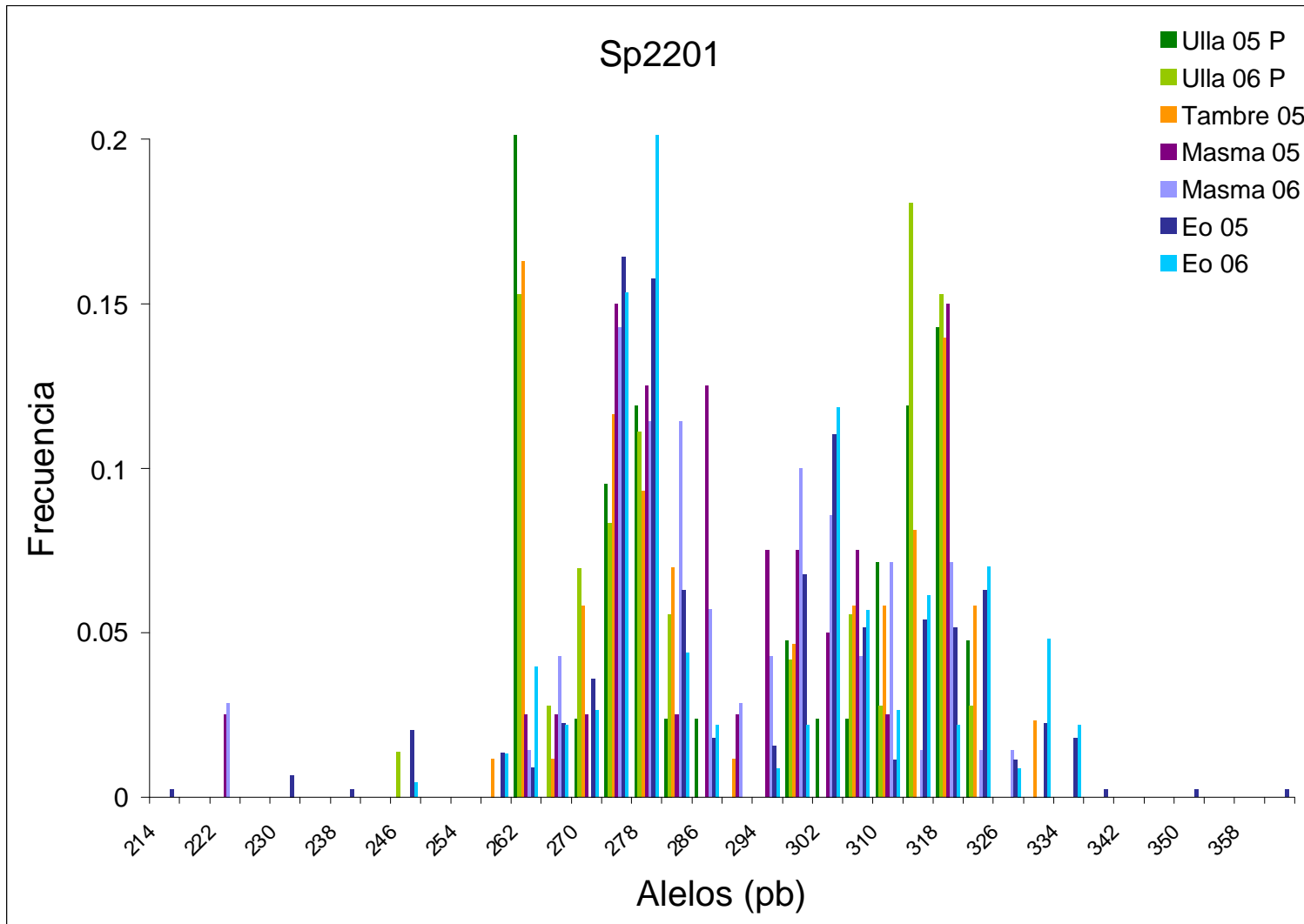
B. Muestras correspondientes a las pesquerías.

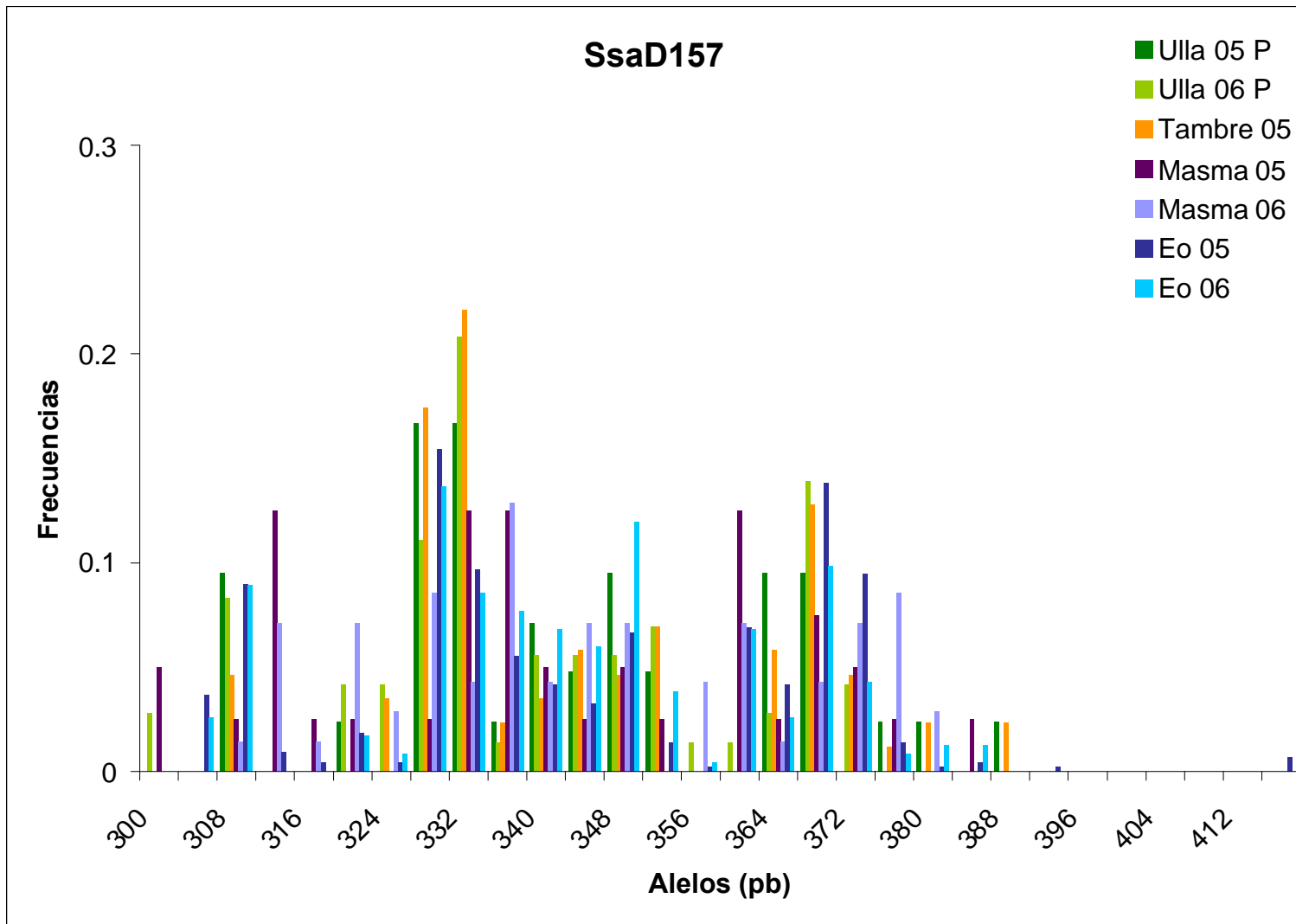












- Belkhir K, Borsa P, Goudet J, Chikhi L. and Bonhomme F. 1998. GENETIX, logiciel sous Windows TM pour la genetique des populations. Laboratoire Genome et Populations, CNRS UPR 9060, Universite de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bowcock AM, Ruiz Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 31; 368(6470): 455-7.
- Braña F, Garrido R, Reyes-Gavilán LF , Toledo MM ,Nicieza AG. 1995. Distribución del salmón Atlántico en la península ibérica. Localización en las cuencas fluviales y en el contexto de las comunidades de peces, p. 13-25. In F. Braña (ed.), Biología y conservación del salmón Atlántico (*Salmo salar*) en los ríos de la región Cantábrica. ICONA, Madrid.
- Caballero P. 2002. Programas de recuperación del salmón Atlántico (*Salmo salar*) en los ríos Ulla, Léz y Miño. En III Jornadas del salmón Atlántico en la Península Ibérica. *Xunta de Galicia*.
- Cheng HH, Crittenden LB. 1994. Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poultry Science* 73:539-546.
- Consuegra S, García de Leániz C, Serdio A, Verspoor E. 2005. Selective exploitation of early running fish may induce genetic and phenotypic changes in Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 67-Supplement A, 129-145.
- Cornuet JM, Luikart G. 1996. Description and Power Analysis of Two Tests for Detecting Recent Population Bottlenecks from Allele Frequency Data. *Genetics* 144: 2001-2014.
- Goudet J, 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Updated from Goudet, J., FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86: 485-486.
- Jeffreys AJ, Willson V, Thein SL. 1985. Individual-specific "fingerprinting" of human DNA. *Nature* 316: 76-79.
- King TL, Eackles MS, Letcher BH. 2005. Microsatellite DNA markers for the study of Atlantic salmon (*Salmo salar*) kinship, population structure, and mixed-fishery analyses. *Molecular Ecology Notes* 5:130-132
- Luikart G, Cornuet JM. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* 12:228-237.
- Klemetsen A, Amundsen PA, Dempson JB, Jonsson B, Jonsson N, O'Connell F, Mortensen E. 2003. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* L.: a review of aspects of their life histories. *Ecology of Freshwater Fish* 12: 1-59.
- O'Reilly PT, Hamilton LC, Mcconnell SK, Wright JM. 1996. Rapid analysis of genetic variation in

Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 53:2292-8.

Paetkau D. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4:347-354.

Paterson S, Piertney SB, Knox D, Gilbey J, Verspoor E. 2004. Characterization and PCR multiplexing of novel highly variable tetranucleotide Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) microsatellites. *Mol Ecol Notes* 4:160-162.

Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A. 2004. GENECLASS 2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity* 95: 536-539.

Piry S, Luikart G, Cornuet J-M. 1998. BOTTLENECK: A program for detecting recent effective population size reductions from allele frequency data. INRA, URLB, Laboratoire de Modélisation et Biologie Evolutive.

Ponsuksili S, Wimmers K, Schmoll F, Horst P, Schellander K. 1999. Comparison of multilocus DNA fingerprints and microsatellites in an estimate of genetic distance in chicken. *Journal of Heredity* 90(6):656-9.

Raymond M, Rousset F. 1995 Genepop (Version 1.2): population genetics software for exact tests of ecumenicism. *Journal of Heredity* 86:248 -249.

Rochambeau, H. de. 2000. Amélioration génétique du lapin pour la production de viande en France. Situation actuelle et perspectives. *Jornadas Internacionales de Cunicultura*. 2000.

Slettan, A, Lie Ø. 1993. Isolation and characterization of variable (GT)_n repetitive sequences from Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Animal Genetics* 24, 195-197.

Taggart JB, Ferguson A. 1990a. Minisatellite DNA fingerprinting of salmonid fishes. *Animal Genetics* 21: 377-389.

Taggart JB, Ferguson A. 1990b. Hypervariable minisatellite DNA single locus probes for the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Biology* 37: 991-993.

Takezaki N. y Nei M. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*. 1996 Sep;144(1):389-99.

Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4:535-538.

WWF. 2001. The status of wild Atlantic Salmon: A river by river assessment - <http://www.worldwildlife.org>.

