

1.- MUESTRAS ANALIZADAS.....	2
2.- METODOLOGÍA	2
3.- ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA.....	3
3.1. Factores que determinan la variabilidad genética	3
3.2. Inferencia estadística	4
3.3. Resultados	5
4.- DETERMINACIÓN DE LA EXISTENCIA DE CUELLOS DE BOTELLA	9
5.- ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL	11
5.1. Análisis del índice F_{ST}	11
5.2. Prueba de asignación	12
6.- CONCLUSIONES	14
7.- BIBLIOGRAFÍA	15
8.- APÉNDICE.....	16

1.- MUESTRAS ANALIZADAS

Se han analizado las muestras procedentes de los adultos de retorno de salmón atlántico capturados durante la temporada de 2007 en los ríos Ulla, Léz, Tea, Masma y Eo, tanto de individuos pescados durante el período hábil para la pesca recreativa, como de aquéllos estabulados en las estaciones de captura (Tabla 1).

	Ulla	Léz	Tea	Masma	Eo
<i>N</i>	252	29	21	15	162
Estación	212	29	21	0	0
Pesca	40	0	0	15	194

Tabla 1. Número de muestras analizadas de cada río (*N*) y procedencia de las mismas (estación de captura o pesca recreativa).

2.- METODOLOGÍA

La metodología de estudio empleada para evaluar el estado genético de estas poblaciones ha sido el análisis de loci microsatélites. Los marcadores microsatélites son regiones de ADN no codificante, de entre 2 y 6 pares de bases que se repiten en tándem a lo largo de todo el genoma. El tipo de herencia de estos marcadores (son codominantes, por lo que es posible diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), su alto grado de polimorfismo y el hecho de no estar sometidos a los efectos de la selección (son neutros) hacen de ellos unos candidatos más que apropiados para analizar la variabilidad genética de las poblaciones. Además, esta técnica es altamente fiable y repetible.

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 SSsp2210, SSspG7 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 permite la lectura simultánea de los seis microsatélites utilizados ya que los cebadores van marcados con fluorescencia de diferente longitud de onda.

Locus	Rango (pb)	Nº alelos	Referencias
<i>SSsp2210</i>	104-185	15	Patterson y col., 2004
<i>SSspG7</i>	112-214	24	Patterson y col., 2004
<i>SsaD144</i>	112-289	35	King y col., 2005
<i>Ssa202</i>	200-330	18	O'Reilly y col., 1996
<i>Sp2201</i>	220-371	21	Patterson y col., 2004
<i>SsaD157</i>	316-416	23	King y col., 2005

Tabla 2. Microsatélites empleados en este trabajo para el análisis genético. Se incluye el rango entre el que varía la longitud de cada locus (en pares de bases) y el número de máximo alelos registrado en la bibliografía.

3.- ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA

3.1. Factores que determinan la variabilidad genética

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 IUCN (International Union for Conservation of Nature) distingue entre tres niveles de diversidad a conservar: la diversidad de ecosistemas, la diversidad de especies y la diversidad genética (Frankham y col., 2002). La diversidad genética está influida por diferentes factores, como la selección, la deriva genética, la consanguinidad, la migración y la especiación (Avice, 2004).

La deriva genética (cambio aleatorio en las frecuencias génicas de una generación a la siguiente) resulta en la pérdida de diversidad genética ya que, por azar en el proceso reproductivo, algunos alelos no se transmiten a la siguiente generación. 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 con la consiguiente depresión consanguínea (la reducción de los valores medios fenotípicos de los caracteres productivos y reproductivos) y, como consecuencia de la misma, la inevitable disminución del censo y/o extinción de la población.

Los programas de repoblación realizan cruces artificialmente con unos pocos individuos, cuya descendencia será liberada al medio natural del que proceden sus progenitores. Estos programas

corren el riesgo de incrementar las relaciones de parentesco de la población, debido a la limitación en el número de individuos que se manipulan. Es por ello importante realizar un control y una evaluación de los niveles de variabilidad genética que garanticen la correcta gestión de las repoblaciones.

3.2. Inferencia estadística

Desde el punto de vista genético, en una población a conservar es fundamental mantener unos altos niveles de variabilidad genética y unos bajos niveles de consanguinidad. La variabilidad genética (heterocigosis y riqueza alélica) es la responsable del potencial adaptativo de la población, permitiendo que ésta se adapte a los cambios en el ambiente. Por su parte, la consanguinidad es la consecuencia del parentesco entre los individuos de la población. Si los individuos están muy emparentados, el número de variantes genéticas será cada vez menor, debido a que los individuos emparentados comparten genes.

En este apartado se han analizado los niveles de heterocigosis (observada y esperada), el número de alelos observado y la riqueza alélica, así como el parentesco y la consanguinidad, de las poblaciones de los cinco ríos estudiados, con objeto de evaluar su estado en términos de variabilidad genética.

Las estimaciones de heterocigosis se realizaron con el programa GENETIX (Belkhir y col., 2001), el número de alelos y la riqueza alélica se calcularon mediante el programa FSTAT (Goudet y col., 2001). La computación del parentesco y la consanguinidad moleculares se realizó con un programa propio basándose en las fórmulas de Caballero y Toro (2000). Por último, se valoró la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los parámetros estudiados entre las poblaciones de los diferentes ríos, mediante análisis de varianza, utilizando para ello el paquete estadístico SPSS.

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.

3.3. Resultados

Con objeto de corroborar la fiabilidad de los datos se empleó el programa MICRO-CHECKER (van Oosterhout y col., 2004), que permite detectar posibles errores durante el proceso de amplificación y de genotipado. Los resultados tras la implementación del programa indicaron ausencia de errores en todas las poblaciones estudiadas.

Todas las poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.004$) para todos los loci analizados, excepto la población del río Masma para el locus Sp2201, probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra. Este equilibrio global es indicativo de que la reproducción se está realizando al azar, factor fundamental para evitar la consanguinidad entre los individuos de cada población.

En la Tabla 3 se muestra un resumen de los parámetros de variabilidad genética para todos los grupos analizados. El número total de alelos observados (**NA**) en todas las poblaciones varió entre 6 para el locus Ssa202 y 24 para el SsaD144. 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. Este nuevo valor estimado es la riqueza alélica (**RA**), parámetro que permite hacer comparaciones entre poblaciones. La riqueza alélica promedio estimada para una población simulada de 11 individuos osciló entre 8,14 (río Ulla) y 10,43 (río Masma).

El promedio de heterocigosis observada (**Ho**) para todos los loci fluctuó entre valores de 0.78-0.88, 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 (**HE** = 0.82-0.86) siendo este dato indicativo de que el patrón de reproducción de las poblaciones es al azar, como ocurriría en una población natural.

El análisis de varianza (ANOVA) confirmó la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de los diferentes ríos para los parámetros de heterocigosis y riqueza alélica (ver Figura 1).

		SSsp2210	SSspG7	SsaD144	Ssa202	Sp2201	SsaD157	Media
Ulla (p)	H_O	0,85	0,78	0,98	0,55	0,93	0,88	0,83
N=40	H_E	0,76	0,78	0,89	0,75	0,89	0,89	0,83
	N_A	8	9	15	7	13	15	11,17
	R_A	6,19	6,52	9,98	5,67	10,23	10,24	8,14
Ulla (r)	H_O	0,71	0,77	0,94	0,75	0,91	0,90	0,83
N=212	H_E	0,72	0,78	0,91	0,75	0,90	0,88	0,82
	N_A	9	14	22	7	18	20	15,00
	R_A	5,63	7,03	10,93	5,41	9,96	9,87	8,14
Ulla (t)	H_O	0,73	0,77	0,95	0,72	0,91	0,89	0,83
N=252	H_E	0,73	0,78	0,90	0,75	0,90	0,89	0,82
	N_A	9	15	22	7	18	20	15,17
	R_A	5,78	6,96	10,80	5,43	9,97	9,91	8,14
Lérez	H_O	0,66	0,86	0,93	0,78	0,90	0,90	0,84
N=29	H_E	0,77	0,84	0,89	0,78	0,91	0,90	0,85
	N_A	8	13	18	8	18	16	13,50
	R_A	5,76	8,83	10,94	5,49	11,33	10,66	8,83
Tea	H_O	0,86	0,86	0,90	0,86	0,90	0,90	0,88
N=21	H_E	0,78	0,84	0,88	0,77	0,90	0,89	0,84
	N_A	6	9	14	7	13	14	10,50
	R_A	5,46	7,92	10,29	6,06	10,73	10,83	8,55
Masma	H_O	0,71	0,69	1,00	0,64	0,73	0,91	0,78
N=15	H_E	0,80	0,84	0,91	0,79	0,88	0,93	0,86
	N_A	7	10	13	6	12	16	10,67
	R_A	6,70	9,33	12,64	5,92	12,00	16,00	10,43
Eo	H_O	0,78	0,74	0,92	0,75	0,93	0,92	0,84
N=162	H_E	0,78	0,77	0,91	0,74	0,89	0,92	0,84
	N_A	9	14	24	8	24	21	16,67
	R_A	5,83	7,07	11,08	5,44	10,58	11,22	8,53

Tabla 3. Parámetros de variabilidad genética estimados en las poblaciones de estudio para cada locus y promedios para todos los loci. H_O , heterocigosis observada; H_E , heterocigosis esperada; N_A , número observado de alelos; R_A , riqueza alélica (calculada para un tamaño muestral de 11 individuos diploides); p , r y t se refieren a individuos pescados, capturados en las estaciones y población total, respectivamente.

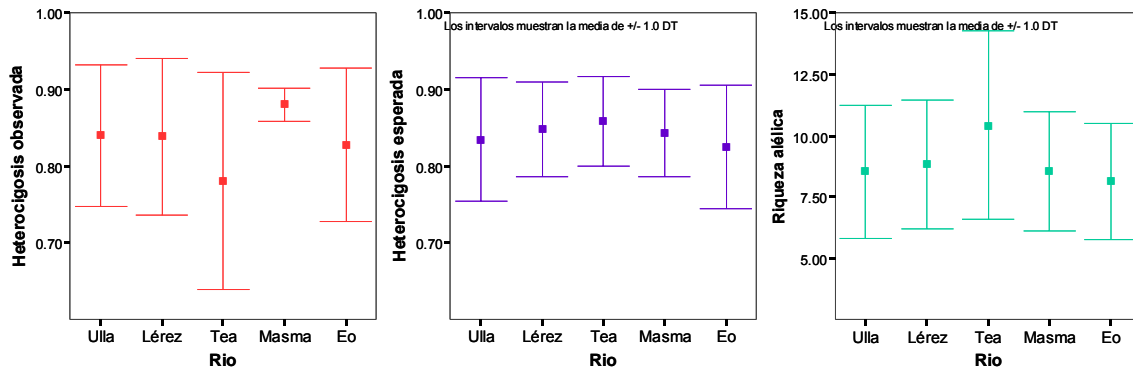


Figura 1. Resultados de los análisis de varianza (pruebas *post hoc* Student-Newman-Keuls) para heterocigosis (observada y esperada) y riqueza alélica. Los cuadrados representan las medias, y las barras de error, una desviación estándar.

En un programa de repoblación es fundamental minimizar los niveles de consanguinidad, o al menos, evitar su incremento. La consanguinidad se define como la probabilidad de que los dos alelos de un locus de un individuo 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.

En especies de peces es bastante difícil disponer de la genealogía de la población. En estos casos, es posible inferir las relaciones de parentesco entre los individuos a través de la información contenida en los marcadores moleculares. Los valores de parentesco y consanguinidad entre los individuos de una población pueden variar entre 0 y 1, indicando el valor 0 ausencia total de parentesco (y por tanto, de consanguinidad) y el valor 1, parentesco (o consanguinidad) total.

Los valores estimados de estos parámetros en las poblaciones estudiadas se resumen en la Tabla 4. El grado de parentesco promedio es inferior en todos los casos a 0,17, mientras que los niveles de consanguinidad promedio detectados no superan el valor de 0,23. Ambos parámetros representan valores aceptablemente bajos en todas las poblaciones. La prueba ANOVA (Figura 2) verificó la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados.

(A)

f	SSsp2210	SSspG7	SsaD144	Ssa202	Sp2201	SsaD157	Media
Ulla	0,272	0,222	0,096	0,247	0,102	0,114	0,176
Lérez	0,232	0,161	0,106	0,223	0,088	0,102	0,151
Tea	0,218	0,158	0,117	0,232	0,101	0,115	0,157
Masma	0,199	0,157	0,090	0,207	0,116	0,070	0,145
Eo	0,218	0,227	0,085	0,257	0,108	0,083	0,164

(B)

F	SSsp2210	SSspG7	SsaD144	Ssa202	Sp2201	SsaD157	Media
Ulla	0,266	0,225	0,055	0,279	0,091	0,107	0,171
Lérez	0,342	0,143	0,071	0,225	0,095	0,095	0,161
Tea	0,143	0,143	0,095	0,143	0,095	0,095	0,119
Masma	0,286	0,308	0,000	0,357	0,273	0,091	0,227
Eo	0,216	0,259	0,081	0,247	0,070	0,076	0,159

Tabla 4. Estimaciones de parentesco (A) y consanguinidad (B) moleculares dentro de cada población, para cada locus y promedios para todos los loci.

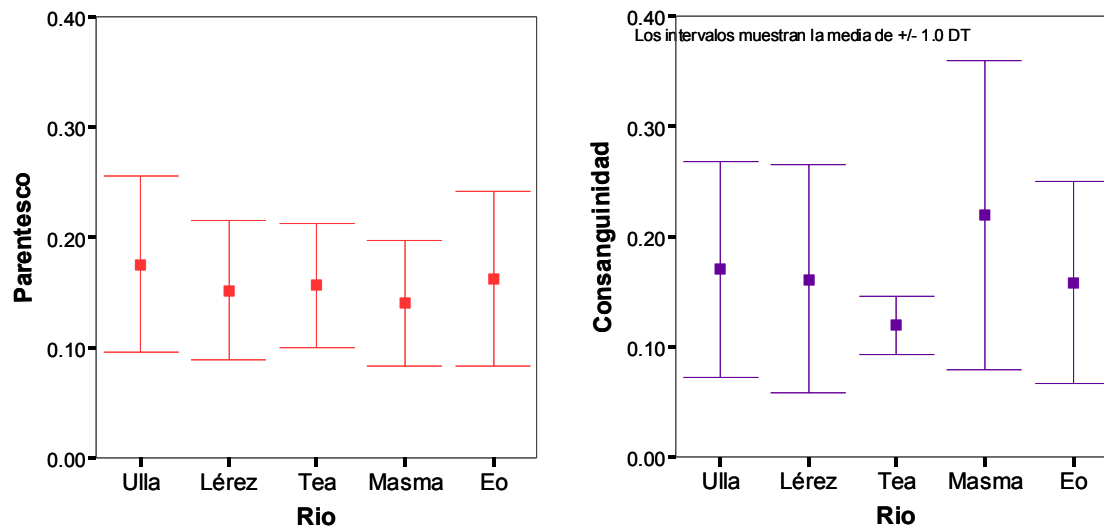


Figura 2. Resultados de los análisis de varianza (pruebas *post hoc* Student-Newman-Keuls) para parentesco y consanguinidad. Los cuadrados representan las medias, y las barras de error, una desviación estándar.

4.- DETERMINACIÓN DE LA EXISTENCIA DE CUELLOS DE BOTELLA

Se dice que una población ha sufrido un cuello de botella cuando ha experimentado un drástico descenso en el número de individuos en algún momento del pasado, pudiendo comprometer, en algunos casos de manera crítica, la viabilidad de la población. Como consecuencia, la composición genética de las generaciones posteriores al cuello de botella puede verse alterada considerablemente.

La determinación de la existencia de cuellos de botella en las poblaciones analizadas se realizó mediante el programa BOTTLENECK (Cornuet y Luikart, 1996). Este programa implementa dos procedimientos. El primero de ellos se basa en que ante un cuello de botella, la pérdida de alelos se hace evidente más rápidamente que la pérdida de heterocigosis. Por tanto, en una población que ha experimentado recientemente un cuello de botella, la diversidad genética (o heterocigosis) observada es mayor que la que se esperaría bajo equilibrio mutación-deriva, 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 heterocigosis. 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). Sin embargo, para los microsatélites se asume que el 90% de las mutaciones ocurren bajo el SSM y el 10% bajo el IAM, lo que se conoce como el modelo de mutación en dos fases (TPM).

El programa permite implementar un segundo procedimiento basado en el método gráfico de Luikart y col. (1998) para estimar la evolución de los alelos poco frecuentes. En una población en equilibrio mutación-deriva, la mayoría de los alelos se encuentran a bajas frecuencias, y sólo unos pocos a frecuencias más elevadas. En este caso, al representar las frecuencias alélicas acumuladas versus los intervalos de frecuencias alélicas, se observa una distribución típica en L, que no se observa cuando la población ha sufrido un cuello de botella.

Los resultados del análisis para las poblaciones de los cinco ríos estudiados se muestran en la Tabla 5. Los valores de probabilidad para el modelo TPM, que es el modelo que se asume para los marcadores microsatélites, indicaron que no se han detectado cuellos de botella en ninguna de las poblaciones analizadas.

	IAM	TPM	SMM
Ulla	0.01	0.96	0.99
Lérez	0.01	0.72	1.00
Tea	0.01	0.08	0.34
Masma	0.01	0.04	0.06
Eo	0.01	0.95	1.00

Tabla 5. Resultados de probabilidad para exceso de heterocigosis en función del modelo mutacional asumido. El programa se ejecutó para 10000 iteraciones. Los resultados estadísticamente significativos se muestran en color azul. $P = 0.0125$ tras corrección secuencial de Bonferroni.

El método gráfico, por su parte, confirmó los resultados obtenidos mediante la prueba de exceso de heterocigosis. En la Figura 3 se muestra la distribución de las frecuencias alélicas para cada una de las cinco poblaciones. En todos los casos (de forma más o menos acusada) se observa la distribución típica en L, que indica que la mayoría de los alelos se encuentran distribuidos a bajas frecuencias en la población.

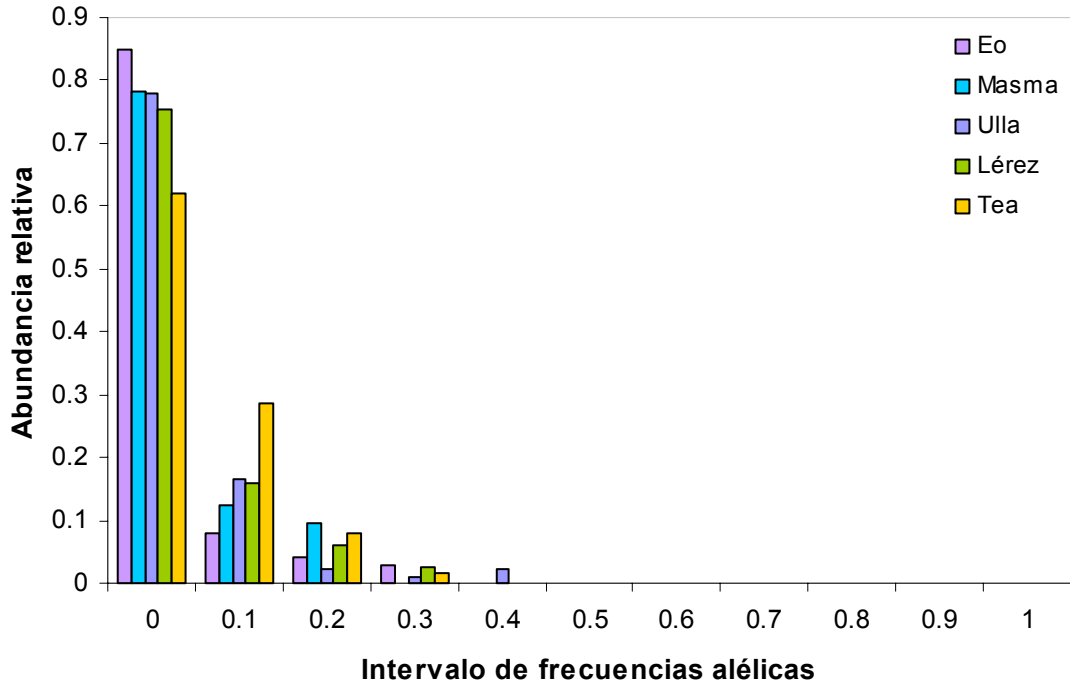


Figura 3. Distribución acumulada de frecuencias alélicas basada en el método gráfico de Luikart y col. (1998).

5.- ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL

5.1. Análisis del índice F_{ST}

Con objeto de inferir la existencia de estructura poblacional se ha utilizado el estadístico F_{ST} . Este índice, cuyos valores están acotados entre 0 y 1, determina el grado de parecido entre las poblaciones, de modo que un valor próximo a 0 indica ausencia de estructura poblacional y un valor cercano a 1 indica un alto grado de divergencia entre las poblaciones.

Los grupos analizados se corresponden con las poblaciones de cada río. La población del río Ulla, asimismo, se dividió en dos subgrupos, un grupo integrado por las muestras recogidas en estación de captura y el otro grupo incluyendo los individuos capturados mediante pesca recreativa. Esta diferenciación se realizó debido a que el período hábil para la pesca coincide en el tiempo con el retorno de los individuos de mayor edad, y por consiguiente, de mayor tamaño. El objetivo en este caso consistió en detectar posibles diferencias entre estos dos subgrupos pertenecientes a la misma población.

Comparando los valores de F_{ST} por pares de poblaciones se comprobó que la población del río Ulla se diferenciaba significativamente del resto de poblaciones, así como el río Eo mostró diferencias en todos los casos, exceptuando al compararlo con el río Masma. Las comparaciones restantes fueron no significativas (ver Tabla 6).

	Ulla (r)	Ulla (t)	Lérez	Tea	Masma	Eo
Ulla (p)	0,000	0,000	0,006	0,024	0,012	0,018
Ulla (r)		0,000	0,011	0,030	0,023	0,022
Ulla (t)			0,010	0,030	0,022	0,022
Lérez				0,015	0,01	0,018
Tea					0,021	0,031
Masma						0,014

Tabla 6. Valores de F_{ST} calculados para cada par de poblaciones. Los valores estadísticamente significativos tras aplicar la corrección secuencial de Bonferroni ($p < 0.0033$) se muestran en color azul. El programa se ejecutó para 1000 permutaciones.

No obstante, se debe tener en cuenta que los tamaños muestrales de las poblaciones de los ríos Lérez, Tea y Masma, constituyen (en el mejor de los casos) menos del 20% del tamaño muestral de las poblaciones de los ríos Ulla y Eo, por lo que los valores no significativos (de magnitud similar a los valores significativos) pueden deberse un efecto del tamaño muestral.

Con el propósito de obtener información sobre la estructura poblacional de un modo gráfico, se utilizó el programa POPULATIONS (ref) para computar una matriz de distancias genéticas basada en la distancia D_A de Nei (1983). Los resultados revelaron que las poblaciones de los ríos de la vertiente cantábrica forman parte del mismo cluster, mientras que las poblaciones de la vertiente atlántica agrupan juntas en un cluster diferente (Figura 4).

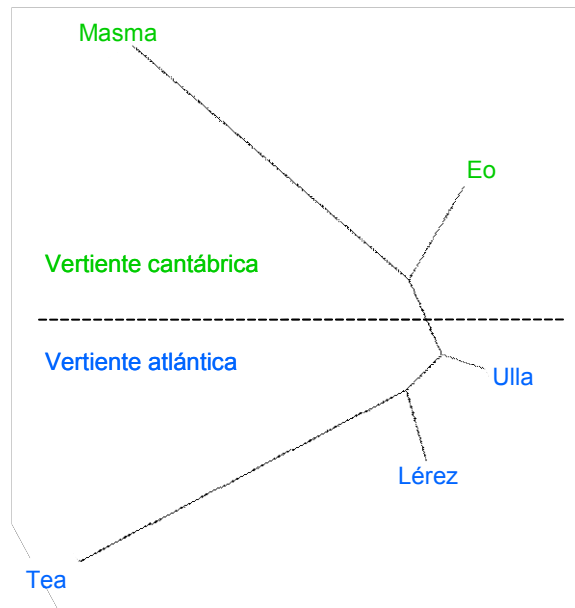


Figura 4. Dendrograma Neighbour-Joining basado en la distancia genética D_A de Nei (1983). La longitud de rama es proporcional a la distancia genética.

5.2. Prueba de asignación

La prueba de asignación se utiliza para asignar individuos a poblaciones, proporcionando información acerca de la posible existencia de flujo genético entre las poblaciones y, por tanto, de su parecido genético entre ellas. Para ello, se ha utilizado el programa GENECLASS v.2, que se basa en el método Bayesiano de Rannala y Mountain (1997) para realizar la asignación de los

individuos a la población correspondiente.

Para comprobar la significación de los resultados se utilizó una prueba de Chi-cuadrado, asumiendo como hipótesis de partida que todos los individuos forman parte de la misma población. Si esta suposición fuese cierta, se esperaría el mismo número de individuos de cada población de origen en cada una de los grupos de asignación (ver Tabla 7).

	Ulla	Lérez	Tea	Masma	Eo
Ulla	197	9	1	2	7
Lérez	31	31	1	1	9
Tea	4	1	19	0	3
Masma	2	0	0	12	5
Eo	18	1	0	0	138
Total	252	42	21	15	162
Obs	197	31	19	12	138
Esp	50.4	8.4	4.2	3	32.4
%o c	0.78	0.74	0.90	0.80	0.85
χ^2	426,4	60,8	52,2	27,0	344,2

Tabla 7. Resultados de la prueba de asignación. Las columnas se corresponden con las poblaciones estudiadas y las filas, con los grupos de asignación. La diagonal coincide con el número de individuos asignados correctamente al río al que pertenecen (datos observados). Obs: datos observados; Esp: datos esperados; %c: porcentaje de individuos asignados correctamente a su río de origen; χ^2 : valor de chi cuadrado (valor tabulado = 26,3 para 16 grados de libertad y un nivel de significación del 95%).

En todos los casos el valor de Chi-cuadrado calculado fue mayor que el valor tabulado (26,3), lo que está indicando que la distribución de los individuos en los grupos de asignación no es al azar, sino que cada población tiene unas características propias diferentes a las otras poblaciones.

El porcentaje de individuos correctamente asignado a cada grupo de asignación (o río) varió entre el 78% para la población del río Ulla y el 90% para la población del río Tea. Estos datos difieren mucho del 20% esperado por azar en caso de que todas las poblaciones se tratasen de una única población.

6.- CONCLUSIONES

1. Los niveles de variabilidad genética de las poblaciones estudiadas se encuentran en unos valores elevados y similares entre sí, tanto en términos de heterocigosis como de riqueza alélica.

2. Los valores de parentesco y consanguinidad estimados a partir de la información contenida en los marcadores moleculares son notablemente bajos, no superando en ningún caso el valor 0,23.

Los puntos 1 y 2 indican que las poblaciones de los ríos estudiados mantienen unos altos niveles de variabilidad genética y unos bajos niveles de parentesco y consanguinidad, lo que garantiza que la gestión de las repoblaciones se está realizando correctamente. Este resultado es fundamental en genética de la conservación en general, y en los programas basados en la suplementación en particular, ya que el objetivo final de estos programas es que las poblaciones se mantengan por sí mismas.

3. A pesar del acusado declive experimentado en las poblaciones de salmón atlántico de estos ríos durante la segunda mitad del siglo XX, no se ha detectado ningún cuello de botella que perdure hasta el presente. Es importante verificar que el éxito de las repoblaciones no se traduce únicamente en un incremento en el número de individuos, sino también en una correcta gestión del acervo genético, fundamental para la recuperación de las poblaciones a largo plazo.

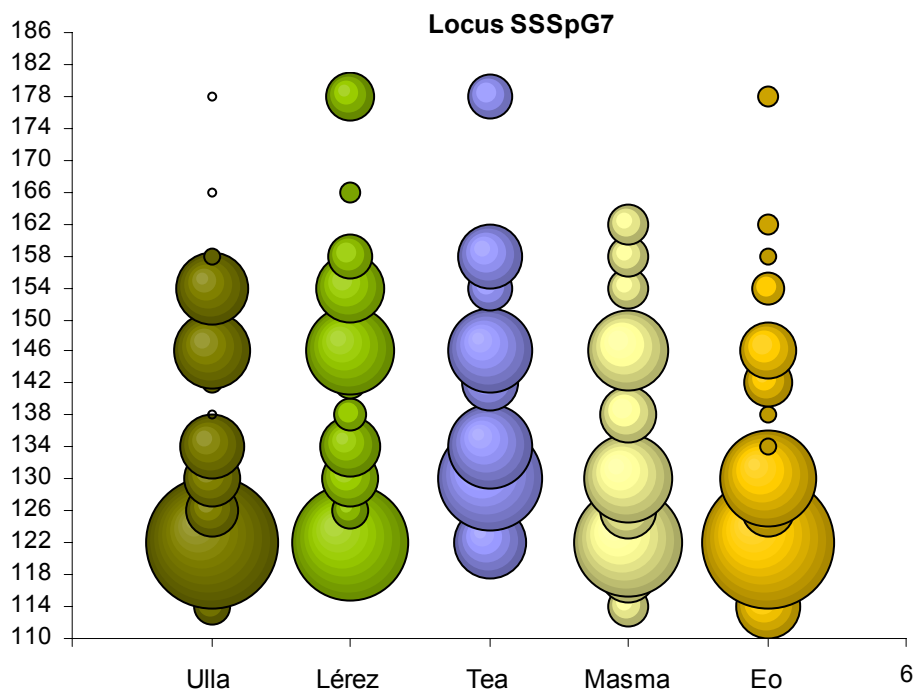
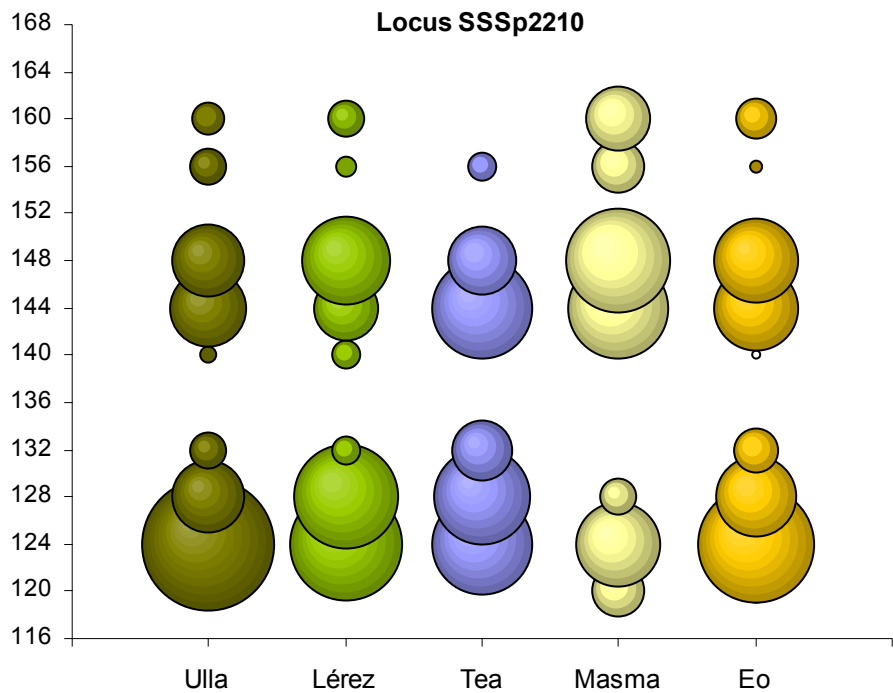
4. El análisis de la estructura poblacional confirma la existencia de diferencias genéticas entre poblaciones más o menos acusadas. Teniendo en cuenta que el salmón atlántico es una especie con una gran fidelidad en el retorno al río de origen, es esperable que existan diferencias entre las poblaciones de los diferentes ríos, tanto mayores cuanto mayor sea la distancia geográfica que las separa. No obstante, la práctica de las repoblaciones puede haber influido en el parecido entre las poblaciones, ya que en los inicios del programa, algunos ríos fueron repoblados con individuos procedentes de otros ríos gallegos.

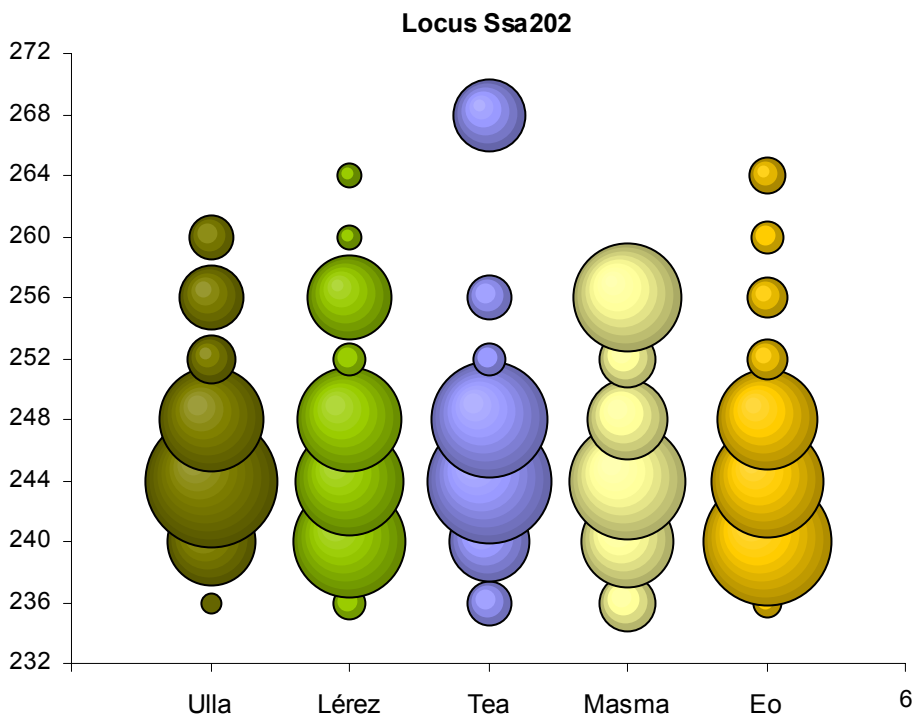
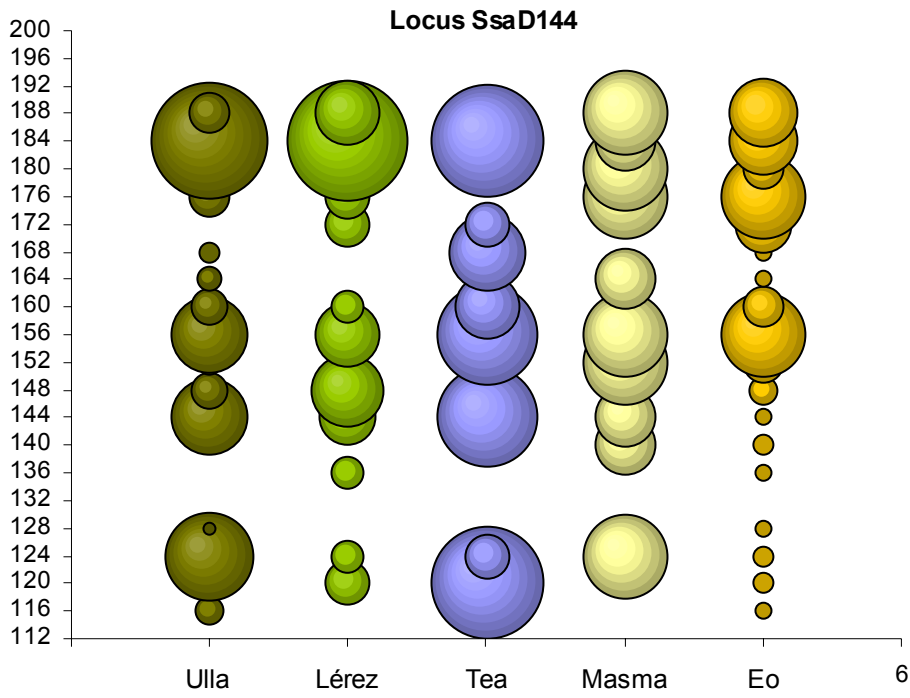
Teniendo en cuenta los resultados de los informes de años pasados (informes de los años 2005 y 2006) y los del presente año, todo indica que se está realizando una correcta gestión de las repoblaciones, que se refleja en la estabilidad de los resultados a lo largo de las generaciones.

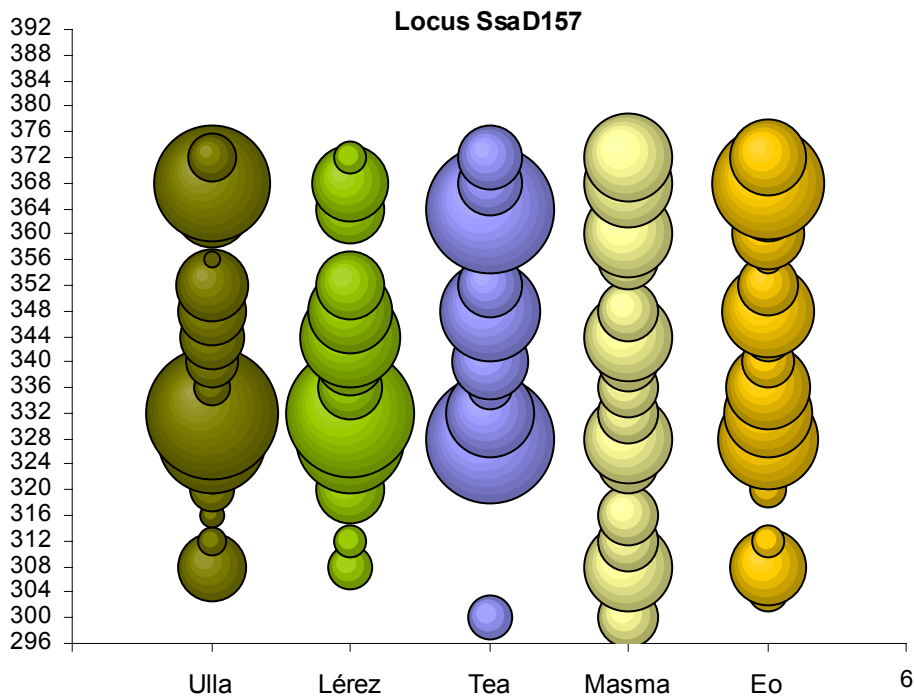
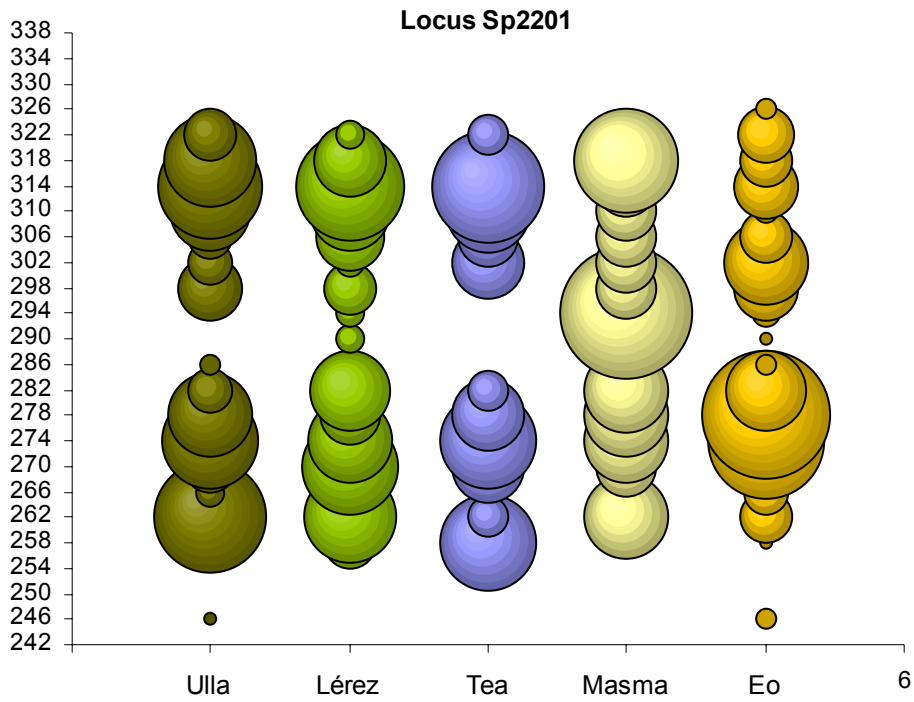
7.- BIBLIOGRAFIA

- Avise J.C. 2000. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*, 2nd edition. Sinauer Press, Sunderland, MA, USA
- Belkhir K., Borsa P., Goudet J., Chikhi L., 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.
- Caballero A., Toro M.A. 2000. Interrelations between effective population size and others pedigree tools for the management of conserved populations. *Genetical Research Cambridge*, 75:331-343
- Cornuet J.M., Luikart G. 1996. Description and Power Analysis of Two Tests for Detecting Recent Population Bottlenecks from Allele Frequency Data. *Genetics* 144: 2001-2014.
- Frankham R., Ballou J.D., Briscoe D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- 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.
- King T.L., Eackles M.S., Letcher B.H. 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 J.M. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* 12:228-237.
- Nei M., Tajima F., Tateno Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution* 19, 153-170.
- O'Reilly P.T., Hamilton L.C., Mcconnell S.K., Wright J.M. 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.
- Paterson S., Piertney S.B., 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.
- Rannala B., Mountain J.L. 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94, 9197-9201.
- Raymond M., Rousset F. 1995 Genepop (Version 1.2): population genetics software for exact tests of ecumenicism. *Journal of Heredity* 86:248 -249.
- Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4:535-538.

8.- APÉNDICE







Suplemento 1. Frecuencias alélicas por locus y población. El tamaño de las burbujas es indicativo de la frecuencia. Los alelos se representan en número de pares de bases en el eje de ordenadas.