

**Fortalecimiento de las capacidades técnicas y de funcionamiento de la
Dirección Nacional de Recursos Acuáticos**

PNUD – DINARA

2019

Informe

Los estudios genéticos en la merluza *Merluccius hubbsi* (Marini 1933) entre los 32°S y los 50°S de latitud. Análisis de la información genética generada en la DINARA

Consultor: Dr. Alejandro Márquez

Criterios seguidos para la elaboración del informe

Para la elaboración del presente informe, fue utilizada la información generada en el Laboratorio de Genética de la DINARA y datos obtenidos de la bibliografía. El informe fue escrito en formato de artículo científico, considerando la extensión habitual en este tipo de comunicaciones, en idioma español según consulta realizada al Departamento de Biología Poblacional de la DINARA. La sección Bibliografía fue escrita siguiendo el criterio de la revista *Fisheries Research*. De esta forma, en caso que la DINARA decidiera publicar este informe en una revista científica arbitrada, el informe ya se encuentra en un formato adaptable a las características de las revistas de este tipo.

Durante el proceso de escritura se recibió sugerencias y comentarios de especialistas de la DINARA sobre el recurso merluza como el Lic. Miguel Rey y la Dra. Inés Lorenzo, así como del Director Sr. Andrés Domingo y el Responsable de Biología M.Sc. Alfredo Pereira. En base a sus sugerencias se elaboró el documento, principalmente incluyendo aspectos que para la DINARA son de interés conocer acerca de la biología de la merluza, y tener en cuenta cuales son los aportes que la genética puede hacer al manejo de la pesquería, en particular los datos analizados.

Introduction

La merluza *Meluccius hubbsi* Marini 1933, es una especie demersal-pelágica de la familia Merluccidae que habita aguas templadas-frías del Atlántico Sudoccidental. Se distribuye entre la región Sudeste de Brasil (21°S) y las Islas Malvinas (55°S), en profundidades entre 50 y 500 m (Figueiredo and Menezes, 1978; Lloris et al., 2005; Lorenzo and Defeo, 2015). Las mayores concentraciones se ubican entre los 37°S y 42°S en el invierno, entre 80 y 200 m de profundidad, mientras que en verano se observan entre 40°S y 45°S entre 60 y 90 m de profundidad (Bezzi et al., 1995). En el sur de Brasil, su abundancia está relacionada a la presencia de las aguas subantárticas (Haimovici et al., 2004; Lorenzo and Defeo, 2015). Entre los 34°S y 46°S, se ha propuesto la existencia de un desplazamiento latitudinal hacia el norte a los 35° y 42°S, entre los meses de mayo y agosto que son acompañados con movimientos offshore-inshore. Estas migraciones se las ha relacionado a comportamientos tróficos, reproducción y condiciones climáticas (Lorenzo and Defeo, 2015; Podesta, 1990).

La merluza es un desovante parcial indeterminado que presenta desoves casi todo el año, lo que ha llevado a pensar la existencia de varios grupos reproductivos, aunque con dudas sobre el grado de mezcla entre ellos (Lloris et al., 2005). Vaz-dos-Santos et al. (2009) analizando aspectos reproductivos de merluza entre los 21°S a 34°S, mostraron un gradiente de desove norte-sur, más intenso en verano en los 21°S y en invierno en los 34°S. Los autores identificaron dos stocks, uno denominado Sudeste, que se distribuye entre los 21°S-29°S y otro Sur entre los 29°S- 34°S, este último compartido con Uruguay y Argentina. El análisis de áreas de desove realizado por Ehrlich and Ciechomski (1994) detectaron cuatro áreas de desove al sur de los 35°S.

En aguas argentino-uruguayas, la diversidad de sitios de desove y de áreas de cría, ha llevado a proponer que la especie podría estar conformada por entre 1 y 5 stocks (Bezzi et al., 1995; Ehrlich and Ciechomski, 1994). En la década de 1960, cuando comienza la pesquería de la especie en la Zona Común de Pesca Argentino Uruguay (ZCP), una región entre los 35°S y los 39°S aproximadamente, donde la pesca es administrada por los Gobiernos de Argentina y Brasil, se asumía que las

merluzas conformaban una sola población con movimientos migratorios y desoves múltiples en dos áreas de desove, generando una homogeneidad genética entre los 35°S y 44°S (Bezzi et al., 1995). También ha sido propuesto que la zona de desove estival en Isla Escondida, desde Península Valdés hasta los 45°S, es utilizada por un grupo diferenciado (Di Giácomo et al., 1993). En la Patagonia la reproducción estaría ligada a las condiciones ambientales, en particular a las anomalías de la temperatura superficial y a la concentración de clorofila, por lo que el cambio climático podría alterar su éxito reproductivo y la estructura poblacional (Marrari et al., 2019).

En la costa Atlántica Sudoccidental la merluza es uno de los principales recursos pesqueros, siendo explotada por 3 países: Argentina, Uruguay y Brasil. El objetivo principal de la gestión de las pesquerías es el uso sostenible a largo plazo de los recursos pesqueros. En el manejo de una pesquería, la dinámica poblacional de la especie debe integrarse a los factores económicos y sociales que impacten sobre la explotación del recurso (Seijo et al., 1997). La administración pesquera se ha basado históricamente en la operación sobre stocks aunque la forma de definirlos ha variado a lo largo de la historia, desde una identificación meramente operacional como son los “harvested stock” o los “fishing stock” que se refieren al conjunto de individuos que están siendo objetivo de una pesquería, hasta conceptos como el “genetic stock” que considera de un mismo stock a aquellos individuos que se reproducen mutuamente y están separados genéticamente de otros stocks de la misma especie (Carvalho and Hauser, 1994; Jamieson, 1973; Ovenden, 1990; Waldman, 2005). La ventaja de identificar poblaciones genéticamente diferenciadas y de acuerdo a ellas definir las unidades de manejo, es que de esa forma podemos preservar la mayor cantidad de diversidad biológica, y hacer un uso lo más sustentable del recurso (Larkin, 1992). En los casos donde un mismo recurso es explotado por flotas pesqueras multinacionales, como es el caso de la merluza, el conocimiento sobre la cantidad de poblaciones presentes en el área de explotación alcanza un aspecto estratégico para los países involucrados en la pesquería.

La genética es una herramienta muy útil en la identificación de poblaciones (Antoniou and Magoulas, 2013) y que ha sido aplicada a la delimitación de

poblaciones en muchas especies explotadas comercialmente que incluyen peces demersales (D'Anatro et al., 2011; Pereira et al., 2009), peces pelágicos (Antoniou et al., 2017; Vella et al., 2016), peces dulceacuícolas (Basiita et al., 2018; Torati et al., 2019), crustáceos (Tourinho et al., 2012). En particular, en especies del género *Merluccius*, existen numerosos trabajos que utilizaron marcadores moleculares para la delimitación de unidades poblacionales (Grant and Leslie, 2001; Machado-Schiaffino et al., 2011; Machado-Schiaffino and Garcia-Vazquez, 2009; Miralles et al., 2014; Quinteiro et al., 2000; von der Heyden et al., 2010). En el caso de la merluza *M. hubbsi* existe evidencia genética sobre la existencia de un grupo diferenciado en el Golfo de San Matías (~43°S), y que probablemente realice movimientos entre la plataforma y el Golfo. Roldan (1991) con el uso de alozimas detecta una mezcla de poblaciones en la Patagonia central que lo atribuye a la mezcla de un stock de Isla Escondida y otro no muestreado del sur de la Patagonia, mientras que Machado-Schiaffino et al. (2011) usando secuencias de ADN de la región control mitocondrial y 6 loci de microsatélites, detectaron diferencias genéticas entre las merluzas del Golfo de San Matías y las de plataformas. Machado-Schiaffino et al. (2011) además observaron una homogeneidad genética entre las merluzas de aguas abiertas colectadas entre los 37°S y los 49°S.

En este trabajo, se utilizaron secuencias de la región control mitocondrial de *M. hubbsi* en un área de muestreo que incluyó la ZCP, aguas patagónicas y del sur de Brasil, para identificar el número de stocks genéticos. Los resultados se discuten en relación a la pertinencia de este conocimiento para el manejo pesquero de la especie.

Materiales y Métodos

Se obtuvieron 270 muestras de músculo de merluzas de Uruguay (ZCP, 36°S-37°S) de otoño, n=41; primavera, n=49; y verano=53, Rio Grande do Sul, Brasil (n=21), y de la Patagonia (43°S Primavera, n=16; 46°S Verano, n=34; 46°S Invierno, n=24; 50°S Otoño, n= 32) (Figura 1). Las muestras de Uruguay fueron tomadas de individuos de diferentes edades, mientras que las otras muestras

estuvieron compuestas por adultos de tamaño autorizado para pesca. Las muestras se conservaron en alcohol hasta la extracción de ADN que siguió el protocolo de extracción salina de (Miller et al., 1988). Se realizaron reacciones de PCR utilizando los cebadores A y D de (Lee et al., 1995) para la amplificación de un fragmento de la región control, según las siguientes condiciones: una desnaturalización inicial de 60 segundos a 94°, 30 ciclos de 60 segundos a 94°, 45 segundos a 50 grados, 60 segundos a 72°, y una extensión final de 72° por 5 minutos. Los productos de amplificación fueron secuenciados en Macrogen Inc. (Corea) y las secuencias alineadas en MEGA7 (Kumar et al., 2016). Los haplotipos se definieron con DNASP (Librado and Rozas, 2009) y las medidas de variabilidad nucleotídica y haplotídica, número de sitios polimórficos, F_{ST} y análisis de AMOVA fueron calculados con Arlequin (Excoffier and Lischer, 2010). El índice F_{ST} mide la diferenciación entre poblaciones, variando entre 0 y 1, donde 0 es falta de diferenciación y 1 diferenciación completa. En AMOVA, el agrupamiento de muestras es evaluado según el porcentaje de variación debido a diferencias: “entre grupos”, “entre poblaciones dentro de los grupos”, y “diferencias de los individuos dentro de los grupos”. El mejor agrupamiento de muestras es el que maximiza el porcentaje de variación “entre grupos” y minimiza el porcentaje de variación entre las muestras de un grupo. Si no hay diferenciación entre las muestras, el mayor porcentaje de variación molecular es explicado por diferencias individuales. Para evaluar una hipótesis de aislamiento por distancia, se realizó un test de Mantel, examinando la correlación entre $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ y el logaritmo de la distancia geográfica entre las localidades de muestreo. La relación entre los haplotipos fue reconstruida en una red con el software Network (Bandelt et al., 1999), donde los círculos representan haplotipos, el tamaño es proporcional a la frecuencia en la muestra, y el color representa su origen geográfico.

Se infirió el agrupamiento espacial de los individuos, utilizando una estimación Bayesiana con el programa Geneland (Guillot et al., 2005), con 50 corridas de 100.000 MCMC iteraciones con un intervalo de afinamiento de 100, permitiendo variar el número de poblaciones (k) entre 1 y 4. Para dar cuenta de posibles incertidumbres en el lugar de muestreo, y dada la naturaleza migradora de la especie, se incluyó una incertidumbre de 1 grado. Además, se utilizó un

método basado en la teoría del coalescente para comparar patrones de migración alternativos con el programa Migrate-n (Beerli, 2006; Beerli and Palczewski, 2010). Migrate-N también estima el tamaño poblacional efectivo $\Theta=2Ne\mu$ (escalado por la tasa de mutación) para datos haploides, donde Ne es el tamaño efectivo de la población y μ es la tasa de mutación por generación por locus, así como la tasa de migración $M= m/\mu$ (escalada por la tasa de mutación), donde m es la tasa de migración entre poblaciones por generación. Si Θ y M son multiplicados, puede calcularse el número de migrantes por generación ($2Nm$). La estrategia de búsqueda Bayesiana fue la siguiente: una búsqueda MCMC de 10.0000 pasos, con un incremento cada 100 pasos. La comparación de los modelos se realizó usando factores Bayesianos loq-equivalentes siguiendo el procedimiento descrito en el tutorial de Migrate-n (http://popgen.sc.fsu.edu/Migrate/Tutorials/Entries/2010/7/12_Day_of_longboarding.html).

Resultados

La variación genética fue moderada, tanto medida como diversidad nucleotídica como haplotídica (Tabla 1), similar en todas las muestras, y no varió cuando las muestras fueron agrupadas por región norte y sur. Se observaron pocos haplotipos en alta frecuencia y ampliamente distribuidos geográficamente, y muchos en copia única como se observa en la red de haplotipos (Figura 2)

Los F_{ST} pareados entre los muestreos estacionales de la ZCP y el sur de Brasil no fueron significativos. Tampoco resultaron significativas las comparaciones estacionales de las muestras de las latitudes 46°S-50°S. Al comparar entre diferentes regiones, la muestra de 43°S mostró un F_{ST} significativo con la muestra de otoño de la ZCP ($F_{ST} = 0,12$; $p = 0,02$) y con la muestra del sur de Brasil ($F_{ST} = 0,15$; $p < 0,01$). La muestra más austral (50°S) mostró diferencias significativas con el sur de Brasil y con la muestra de otoño de la ZCP (Tablas 2 y 3). El AMOVA mostró que agrupando todas las muestras, excepto la de 43°S se explica mejor la varianza molecular, apoyando la homogeneidad de las merluzas en toda el área muestreada, con excepción de la latitud 43°S (Tabla 4).

Dado que las muestras de la ZCP con el sur de Brasil no mostraron

diferencias significativas, y tampoco mostraron diferencias significativas las muestras tomadas entre las latitudes 46°S-50°S, fue posible juntar las muestras de los extremos del área de estudio. Así quedaron conformados 3 grupos regionales y se calcularon nuevamente los F_{ST} pareados: un grupo “norte” conformado por las muestras de la ZCP y del sur de Brasil, un grupo “sur” conformado por las muestras de las latitudes 46°S y 50°S, y un tercer grupo conformado por la muestra de la latitud 43°S. Al comparar los F_{ST} entre estos tres grupos, las regiones norte y sur no resultaron significativas. En cambio, la muestra de los 43°S mostró diferencias significativas con la región Norte pero no con la región Sur. El test de Mantel no mostró una correlación significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica ($p = 0,22$) mostrando que la diferenciación observada no responde a un patrón de diferenciación por distancia.

En las 50 simulaciones realizadas con el software Geneland, los individuos fueron asignados a $k=1$ o $k=2$ poblaciones. Las simulaciones con mejor probabilidad a posteriori estimó que los individuos se agrupaban en $k = 2$ poblaciones. En esta corrida, todos los individuos de la ZCP y del sur de Brasil tuvieron una probabilidad del 100% de pertenecer a la población 1. Las muestras de las latitudes 46°S y 50°S presentaron probabilidades altas de pertenecer a la misma población que las muestras de la ZCP y sur de Brasil (91% y 94 % respectivamente de pertenecer a la población 1), mientras que los individuos de la muestra de la latitud 43°S presentaron una probabilidad del 40 % de pertenecer a la población 1 y 60 % de pertenecer a otra población 2 (Figura 3). Esto muestra la diferenciación de la muestra de la latitud 43°S y la similitud de las muestras de ambos extremos del muestreo. No obstante, la muestra del 43°S podría representar una mezcla de poblaciones dado que los individuos mantienen una probabilidad relativamente alta (40%) de pertenecer a la misma población que las muestras del 32°S hasta el 50°S. De hecho, los individuos del extremo sur mantienen una probabilidad baja de pertenecer a la población 2, lo cual podría reflejar un pequeño aporte de las muestras de 43°S en aguas de las latitudes 46°S y 50°S.

El software Migrate-n fue corrido utilizando dos muestras, una conformada por las muestras del extremo norte (ZCP y Sur de Brasil) y otra con las muestras

del extremo sur (Latitudes 46°S y 50°S), excluyendo en este análisis la muestra de 43°S por el pequeño tamaño muestral. Se evaluaron 4 modelos de migración: (1) modelo completo con 2 tamaños poblacionales y 2 tasas de migración (una de norte a sur y otra de sur a norte); (2) un modelo con 2 tamaños poblacionales y 1 tasa de migración de sur a norte; (3) un modelo con dos tamaños poblacionales y 1 tasa de migración de norte a sur; y (4) las muestras forman parte de una única población panmítica. Los análisis coalescentes de los modelos de migración apoyaron altamente el modelo 1 ($p = 0,999977$) (modelo con dos tamaños poblacionales y dos tasas de migración) con θ mayor en la region norte ($\theta = 0,19253$) que en la region sur ($\theta = 0,00471$). El modelo estableció un flujo génico bidireccional entre las dos regiones pero la tasa de migración fue mayor en el sentido sur-norte ($M_{\text{sur-norte}} = 13.838,8$, $Nm_{\text{sur-norte}} = 2.664$, mientras que $M_{\text{norte-sur}} = 3.465,7$, $Nm_{\text{norte-sur}} = 16$) (Figura 4).

Discusión

El análisis de las secuencias de región control de la merluza *M. hubbsi* muestra que la especie presenta una homogeneidad genética entre el sur de Brasil (32°S) y la Patagonia (50°S), apoyando la hipótesis de que las merluzas en aguas uruguayas y el sur de Brasil conforman una única población que se distribuiría hasta la aguas de plataforma de la Patagonia. Este resultado concuerda con lo observado por Machado-Schiaffino et al. (2011), quienes no detectaron diferencias significativas entre los 37°S y los 49°S utilizando un segmento menor de región control que el utilizado en este trabajo y loci de microsatélites. El otro resultado importante es la identificación de un grupo diferenciado en la latitud 43°S con características de una mezcla de poblaciones. La hipótesis de una posible mezcla de poblaciones en aguas patagónicas se apoya en los resultados de Machado-Schiaffino et al. (2011) quienes observaron que las merluzas del Golfo San Matías aparecen como una población diferenciada, y a lo encontrado por Roldán (1991), quien utilizando isoenzimas detecta una mezcla de poblaciones en una muestra de merluzas colectadas en la Patagonia Central que propone sea una mezcla de un grupo de Isla Escondida (43°S-44°S) con un grupo no identificado. La mezcla observada se estaría produciendo principalmente en la latitud 43°S y de forma menor entre los 46°S y 50°S.

La homogeneidad genética que las merluzas *M. hubbsi* de plataforma presentan entre los 32°S y los 50°S se mantiene a pesar de que en esta área de distribución han sido descritos varios sitios de reproducción y de cría de juveniles (Bezzi et al., 1995; Ehrlich and Ciechomski, 1994; Lloris et al., 2005). Por lo tanto, los comportamientos migratorios de la especie haría que mantuviera niveles altos de flujo génico, probablemente porque los mismo individuos podrían desovar en diferentes lugares, en diferentes épocas del año. De hecho, solo es necesario un flujo génico de unos pocos individuos por generación para que se impida la diferenciación (Carvalho and Hauser, 1994) y por lo tanto, el comportamiento desovante parcial de la merluza estaría contribuyendo a evitar la diferenciación genética. El análisis coalescente indicó que los tamaños efectivos de la población en el extremo norte serían mayores que los del extremo sur, y que el flujo génico sería principalmente en sentido sur-norte. Este resultado se refiere a los números efectivos de hembras reproductoras (dado que se utilizó un marcador mitocondrial) en una población ideal que perdería diversidad genética al mismo ritmo que la población real estudiada (Phillipsen et al., 2011), lo podría mostrar la importancia del extremo norte de la distribución en la reproducción de la población.

A los efectos de la pesquería, las merluzas deberían considerarse como un único stock genético entre los 32°S y los 50°S, con la excepción de las merluzas entorno a la latitud 43°S, dado que probablemente allí la población ampliamente extendida comparta aguas con una población local con zona de reproducción en el Golfo de San Matías. La identificación de un único “stock genético” entre el sur de Brasil y la Patagonia tiene implicancias para el manejo, dado que deberían considerarse una única unidad de manejo, y considerar los parámetros poblacionales en todo el rango de distribución de este stock, como características biológicas de la misma población. También hay que considerar que las acciones de manejo en toda el área de distribución podría tener efectos sobre la población completa. Actualmente, la explotación de las merluzas en la región analizada son explotadas por tres países. En Brasil, la pesca de la especie es administrada exclusivamente por ese país. En cambio, en la ZCP entre los 35°S y los 39°S, las merluzas son administradas conjuntamente por Argentina y Uruguay, mientras

que más al sur es administrada en exclusividad por Argentina. Bajo el paradigma que las pesquerías deberían tener como unidad de explotación a las poblaciones, entendidas como un conjunto de individuos que se reproducen mutuamente y están separados genéticamente de otros stocks de la misma especie, las merluzas en el Atlántico Sudoccidental conformarían un stock de amplia distribución. Por lo tanto, las acciones de explotación realizadas por cada país influirán en la disponibilidad del recurso de los otros dos por lo cual sería recomendable una coordinación, o al menos un conocimiento sobre la explotación del recurso en toda la extensión de la población.

Bibliografía

- Antoniou, A., Kasapidis, P., Kotoulas, G., Mylonas, C.C., Magoulas, A., 2017. Genetic diversity of Atlantic Bluefin tuna in the Mediterranean Sea: Insights from genome-wide SNPs and microsatellites. *J. Biol. Res.* 24, 1–14.
- Antoniou, A., Magoulas, A., 2013. Application of Mitochondrial DNA in Stock Identification, Second Ed. ed, *Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science: Second Edition*. Elsevier.
- Bandelt, H.-J., Forster, P., Röhl, A., 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Mol. Biol.* 16, 37–48.
- Basiita, R.K., Zenger, K.R., Mwanja, M.T., Jerry, D.R., 2018. Gene flow and genetic structure in Nile perch, *Lates niloticus*, from African freshwater rivers and lakes. *PLoS One* 13, e0200001.
- Beerli, P., 2006. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics* 22, 341–345.
- Beerli, P., Palczewski, M., 2010. Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. *Genetics* 185, 313–326.

- Bezzi, S.I., Verazay, G.A., Dato, C. V, 1995. Biology and fisheries of Argentine hakes (*M. hubbsi* and *M. australis*), in: Hake. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 239–267.
- Carvalho, G.R., Hauser, L., 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish.* 4, 326–350.
- D'Anatro, A., Pereira, A.N., Lessa, E.P., 2011. Genetic structure of the white croaker, *Micropogonias furnieri* Desmarest 1823 (Perciformes: Sciaenidae) along Uruguayan coasts: contrasting marine, estuarine, and lacustrine populations. *Environ. Biol. Fishes* 91, 407–420.
- Di Giacomo, E.E., Calvo, J., Perier, M.R., Morriconi, E., 1993. Spawning aggregations of *Merluccius hubbsi*, in Patagonian waters: evidence for a single stock? *Fish. Res.* 16, 9–16.
- Ehrlich, E., Ciechomski, J.D., 1994. Reseña sobre la distribución de huevos y larvas de merluza *merluccius hubbsi* basada en veinte años de investigaciones. *Frente Marítimo* 15 Sec. A, 37–50.
- Excoffier, L., Lischer, H.E.L., 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10, 564–567.
- Figueiredo, J.L., Menezes, N.A., 1978. Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil. II. Teleostei (1).
- Grant, W.S., Leslie, R.W., 2001. Inter-ocean dispersal is an important mechanism in the zoogeography of hakes (Pisces: *Merluccius* spp.). *J. Biogeogr.* 28, 699–721.
- Guillot, G., Mortier, F., Estoup, A., 2005. GENELAND: A computer package for landscape genetics. *Mol. Ecol. Notes* 5, 712–715.
- Haimovici, M., Ávila-da-Silva, A.O., Tutui, S.L.D.S., Bastos, G.C.C., dos Santos, R.A., Fischer, L.G., 2004. PROSPECÇÃO PESQUEIRA DE ESPÉCIES DEMERSAIS COM ESPINHEL-DE-FUNDO NA REGIÃO SUDESTE-SUL DO BRASIL, in: Haimovici,

M., Ávila-da-Silva, A.O., Rossi-Wongtschowski, armen L.D.B. (Eds.),
Prospecção Pesqueira de Espécies Demersais Com Espinhel-de-Fundo Na
Zona Econômica Exclusiva Da Região Sudeste-Sul Do Brasil. (Série
Documentos Revizee : Score Sul. Instituto Oceanográfico, USP, Sao Paulo.

Jamieson, A., 1973. Genetic “tags” for marine fish stocks, in: Sea Fisheries Research.
Elek Science, London, pp. 91–99.

Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics
Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Mol. Biol. Evol. 33, 1870–1874.

Larkin, P.A., 1992. The stock concept and management of Pacific salmon, in: Larkin,
R.C.S. an P.A. (Ed.), The Stock Concept in Pacific Salmon. H. R. MacMillan
Lectures in Fisheries. Univesrity of British Columbia, Vancouver, BC, Canada,
pp. 11–15.

Lee, W., Conroy, J., Howell, W.H., Kocher, T.D., 1995. Structure and Evolution of
Teleost Mitochondrial Control Regions. J. Mol. Evol. 41, 54–66.

Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of
DNA polymorphism data. Bioinformatics 25, 1451–1452.

Lloris, D., Matallanas, J., Oliver, P., 2005. Hakes of the World (Family Merlucciidae).
An annotated and illustrated catalogue of hake species to date. FAO Species
Catalogue for Fishery Purposes No. 2. FAO.

Lorenzo, M.I., Defeo, O., 2015. The biology and fishery of hake (*Merluccius hubbsi*)
in the Argentinean-Uruguayan common fishing zone of the Southwest Atlantic
Ocean, in: Arancibia, H. (Ed.), Hakes, Biology and Exploitation. Wiley
Blackwell, pp. 185–210.

Machado-Schiaffino, G., Garcia-Vazquez, E., 2009. Isolation and characterization of
microsatellite loci in *Merluccius australis* and cross-species amplification. Mol.
Ecol. Resour. 9, 585–587.

Machado-Schiaffino, G., Juanes, F., Garcia-Vazquez, E., 2011. Identifying unique

populations in long-dispersal marine species: Gulfs as priority conservation areas. *Biol. Conserv.* 144, 330–338.

Marrari, M., Macchi, G.J., Santos, B., Leonarduzzi, E., 2019. Influence of environmental conditions on the reproductive success and recruitment of the Argentine hake *Merluccius hubbsi* (southwestern Atlantic Ocean). *Fish. Oceanogr.* 28, 66–81.

Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16, 1215.

Miralles, L., Machado-Schiaffino, G., Garcia-Vazquez, E., 2014. Genetic markers reveal a gradient of hybridization between cape hakes (*Merluccius capensis* and *Merluccius paradoxus*) in their sympatric geographic distribution. *J. Sea Res.* 86, 69–75.

Ovenden, J., 1990. Mitochondrial DNA and marine stock assessment: A review. *Mar. Freshw. Res.* 41, 835.

Pereira, A.N., Márquez, A., Marin, M., Marin, Y., 2009. Genetic evidence of two stocks of the whitemouth croaker *Micropogonias furnieri* in the Río de la Plata and oceanic front in Uruguay. *J. Fish Biol.* 75, 321–331.

Phillipsen, I.C., Funk, W.C., Hoffman, E.A., Monsen, K.J., Blouin, M.S., 2011. Comparative analyses of effective population size within and among species: Rapid frogs as a case study. *Evolution (N. Y.)* 65, 2927–2945.

Podesta, G.P., 1990. Migratory pattern of Argentine hake *Merluccius hubbsi* and oceanic processes in the southwestern Atlantic Ocean. *Fish. Bull.* 88, 167–177.

Quinteiro, J., Vidal, R., Rey-Mendez, M., 2000. Phylogeny and biogeographic history of hake (genus *Merluccius*), inferred from mitochondrial DNA control-region sequences. *Mar. Biol.* 136, 163–174.

Roldan, M.I., 1991. Enzymatic polymorphisms in the Argentinian hake, *Merluccius hubbsi* Marini, of the Argentinian continental shelf. *J. Fish Biol.* 39, 53–59.

- Seijo, J., Defeo, O., Salas, S., 1997. Bioeconomía Pesquera - Teoría, modelación y manejo. FAO, Roma.
- Torati, L.S., Taggart, J.B., Varela, E.S., Araripe, J., Wehner, S., Migaud, H., 2019. Genetic diversity and structure in *Arapaima gigas* populations from Amazon and Araguaia-Tocantins river basins. *BMC Genet.* 20, 1–13.
- Tourinho, J.L., Solé-Cava, A.M., Lazoski, C., 2012. Cryptic species within the commercially most important lobster in the tropical Atlantic, the spiny lobster *Panulirus argus*. *Mar. Biol.*
- Vaz-dos-Santos, A.M., Rossi-Wongtschowski, C.L.D.B., de Figueiredo, J.L., 2009. *Merluccius hubbsi* (Teleostei:Merlucciidae): Stock identification based on reproductive biology in the South-Southeast Brazilian region. *Brazilian J. Oceanogr.* 57, 17–31.
- Vella, A., Vella, N., Karakulak, F.S., Oray, I., Garcia-Tiscar, S., de Stephanis, R., 2016. Population genetics of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758), in the Mediterranean: implications for its conservation management. *J. Appl. Ichthyol.* 32, 523–531.
- von der Heyden, S., Lipinski, M.R., Matthee, C.A., 2010. Remarkably low mtDNA control region diversity in an abundant demersal fish. *Mol. Phylogenet. Evol.* 55, 1183–1188.
- Waldman, J.R., 2005. Defining of Stocks: An Evolving Concept, in: Cadrin, S.X., Friedland, K.D., Waldman, J.R. (Eds.), *Stock Identification Methods. Application in Fishery Science.* Elsevier Academic Press, pp. 7–16.

Figuras

Figura 1. Localidades de muestreo de la merluza *M. hubbsi* en Atlántico sudoccidental. Referencias: RS, Sur de Brasil (Latitud 32°S), ZCP, Zona Común de Pesca Argentino-Uruguay (Latitud 36°S), LAT43, muestra de la latitud 43°S, LAT46, muestra de la latitud 46°S, LAT50, muestra de la latitud 50°S.

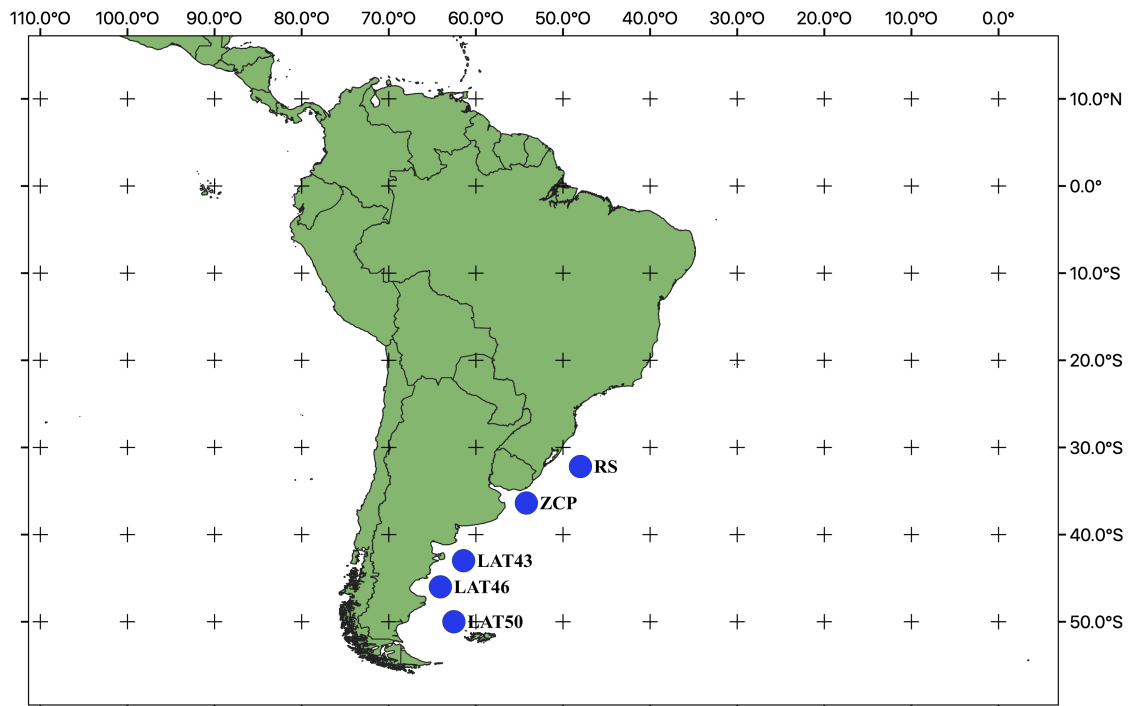


Figura 2. Red de haplotipos de las secuencias de región control de *M. hubbsi*. Cada círculo representa un haplotipo y el diámetro es una medida de la frecuencia en la muestra. Colores de referencia: marrón, muestras colectadas entre los 32°S-36°S; verde, muestras colectadas entre los 46°S-50°S; amarillo, muestras de la latitud 43°S.

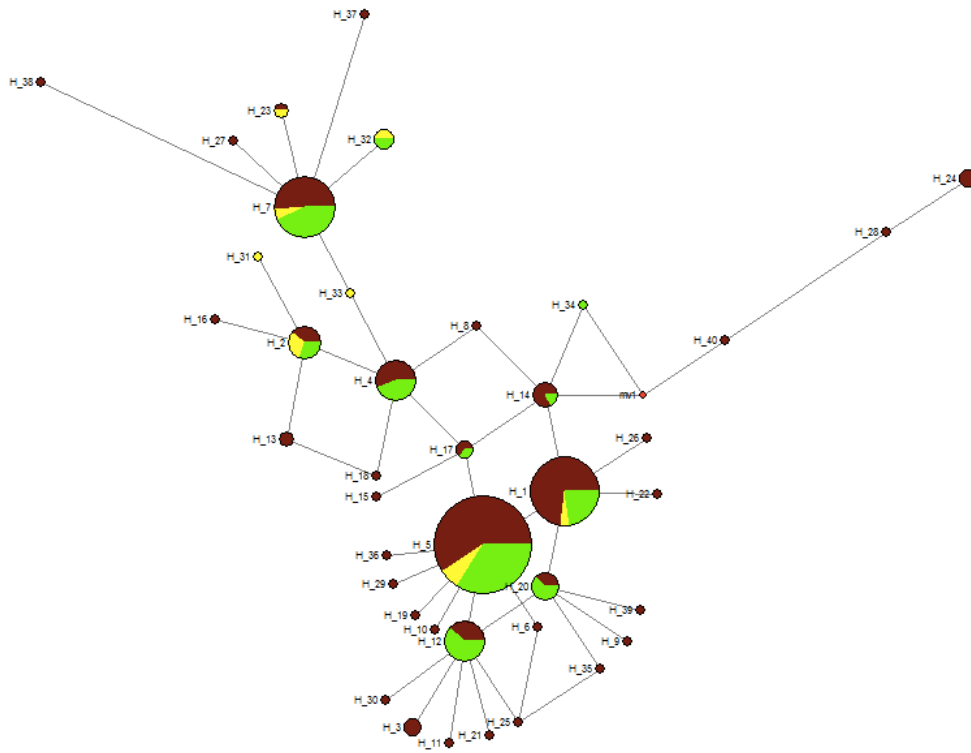


Figura 3. Gráfico de barras con las probabilidades de los individuos de *M. hubbsi* de pertenecer a la población 1 (cluster 1, rojo) o la población 2 (cluster 2, celeste). Referencias: RS, Sur de Brasil (Latitud 32°S), ZCP, Zona Común de Pesca Argentino-Uruguay (Latitud 36°S), LAT43, muestra de la latitud 43°S, LAT46, muestra de la latitud 46°S, LAT50, muestra de la latitud 50°S.

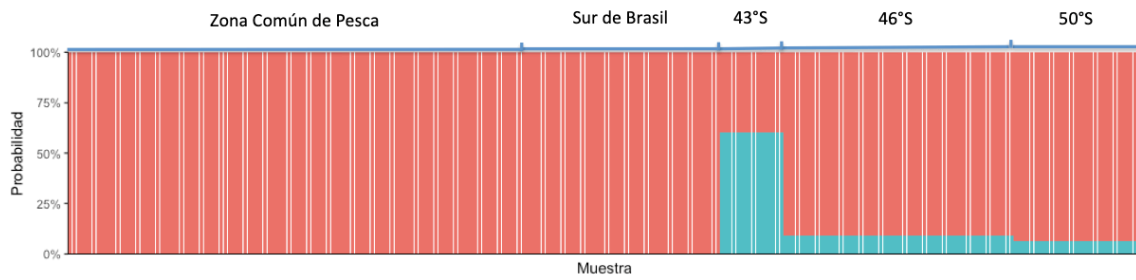
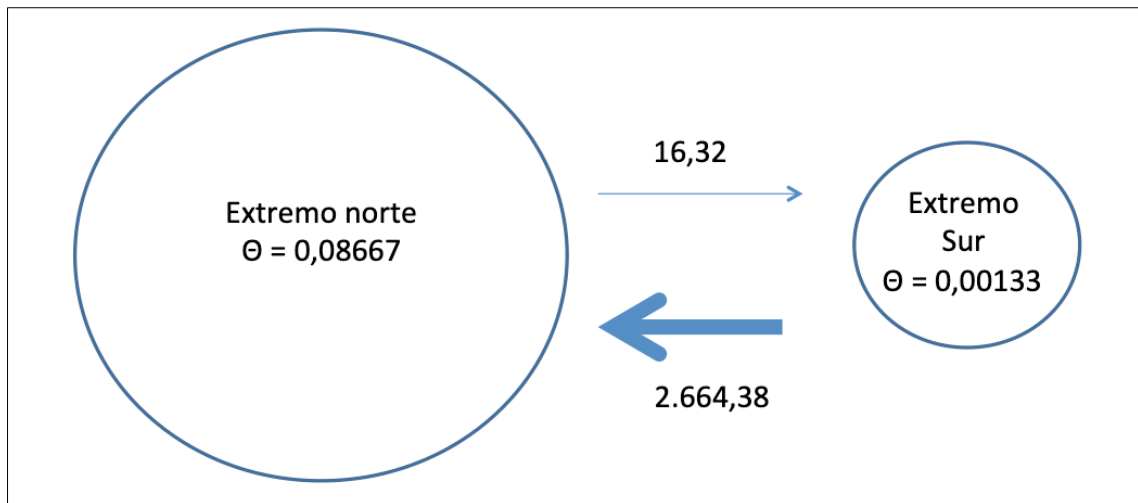


Figura 4. Esquema describiendo el mejor modelo de migración para *M. hubbsi* entre el extremo norte del muestreo (Zona Común de Pesca y Sur de Brasil, latitudes 32°S-36°S) con el extremo sur (Latitudes 46°S-50S) según inferido por el análisis bayesiano implementado en Migrate-n. Los números en las flechas son el número efectivo de migrantes por generación (N_m) estimado para el modelo completo de migración (dos tamaños poblacionales y dos tasas de migración).



Tablas

Tabla 1. Índices de diversidad de *Merluccius hubbsi*. N: número de individuos en cada muestra, H: número de haplotipos, S: número de sitios polimórficos, h: diversidad haplotídica, π : diversidad nucleotídica. “Extremos norte” surge de agrupar las localidades de Zona Común de Pesca y el sur de Brasil, mientras que el “Extremo sur” agrupa las muestras de las latitudes 46°S y 50°S.

Muestra	Índices de diversidad				
	N	H	S	<i>h</i>	π
Sur de Brasil	21	7	7	0.7333	0.0025
ZCP Otoño	41	14	11	0.8012	0.0026
ZCP Primavera	49	14	12	0.8478	0.0037
ZCP Verano	53	13	15	0.8200	0.0037
46°S Verano	34	11	11	0.8734	0.0037
46°S Invierno	24	9	12	0.8297	0.0032
50°S Otoño	32	11	10	0.8347	0.0038
43°S	17	8	8	0.8529	0.0039
Extremo norte	161	28	22	0.8220	0.0030
Extremos sur	90	19	15	0.8400	0.0034

Tabla 2 . F_{ST} pareados entre las localidades de muestreo. Los valores negativos son considerados como cero. Las comparaciones en negrita corresponde a valores estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Referencias: ZCP, Zona Común de Pesca; Pri, primavera; Oto, otoño, Inv, invierno; Ver, verano; RS, sur de Brasil.

	RS	ZCP Pri	ZCP Oto	ZCP Ver	43°S	46°S Ver	46°S Inv	50°S Oto
RS	----							
ZCP Pri	0,019	----						
ZCP Oto	0,043	0,009	----					
ZCP Ver	0,011	-0,002	0,002	----				
43°S	0,143	0,030	0,117	0,073	----			
46°S Ver	0,053	-0,016	0,010	0,000	0,025	----		
46°S Inv	0,029	-0,007	-0,017	-0,023	0,084	-0,014	----	
50°S Oto	0,079	0,001	0,061	0,020	-0,004	-0,011	0,020	----

Tabla 3 . F_{ST} pareados agrupando las muestras en tres regiones: el extremo norte del muestreo agrupado las muestras de la ZCP y el sur de Brasil; el extremo sur agrupando las muestras del 46°S y 50°S; y un tercer grupo considerando solamente la muestra de la latitud 43°S. Los valores negativos son considerados como cero. Las comparaciones en negrita corresponde a valores estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

	Extremo norte	Latitud 43°S	Extremo sur
Extremo norte	----		
Latitud 43°S	0,076	----	
Extremo sur	0,006	0,033	----

Tabla 4. Resultados de análisis de AMOVA evaluando 5 hipótesis de agrupamiento de las muestras. La hipótesis marcada en negrita es la que mejor explica la varianza molecular, dado que generó los grupos con mayor porcentaje de varianza explicada.

Hipótesis de agrupamiento	% de varianza molecular explicada		
	Entre grupos	Entre poblaciones dentro de grupos	En las poblaciones
1) 4 stocks (Sur de Brasil, 36°S-37°S, 43°S and 46°S-50°S)	2.14	0.08	97.78
2) 3 stocks (Extremo norte, 43°S y Extremo sur)	1.93	0.41	97.66
3) 2 stocks (Extremo norte + (Extremo sur y 43°S))	1.29	0.86	97.85
4) 2 stocks ((Extremo norte y 43°S) + Extremo sur)	0.05	1.56	98.39
5) 2 stocks (Todos juntos excepto 43°S)	5.21	0.80	93.99