

Análisis de la Estructura Genética de Poblaciones del Caracol Rosado, *Strombus gigas* (L.) en la Península de Yucatan

ROBERTO ZAMORA BUSTILLOS, LUIS ALFONSO RODRÍGUEZ GIL,
FRANCISCO GARCIA DE LEON, y JORGE TELLO

Instituto Tecnológico de Mérida

*División de Estudios de Posgrado, Laboratorio de Aprovechamiento de
Recursos Marinos y Agropecuarios*

*Km-5 Carretera Mérida, Progreso. A.P. 9-11
C.P. 97118 Mérida, Yucatán, México*

RESUMEN

La estructura genética poblacional es el parámetro más fundamental de información para las especies que requieren manejo pesquero. En efecto, las especies que constituyen un solo "stock" en un área muy amplia del océano deberán ser manejadas de manera diferente a aquellas especies constituidas por "stock" discretos que habitan un área particular y que raramente migran de un lugar a otro. De tal manera, el hecho de que existan especies altamente migratorias y con fases inmaduras con amplias capacidades de dispersión ha impulsado investigaciones cada vez mas detallada para explicar el fenómeno, provocando gran discusión el saber si estas especies están estructuradas en subpoblaciones. Estos aspectos pueden aplicarse al caracol marino (*Strombus gigas*, Linnaeus 1758). Este es un recurso de considerable importancia económica y amplio consumo en toda la región del Caribe. En el presente estudio se realizó un análisis genético utilizando el ADN mitocondrial con RFLP's de muestras colectadas en las localidades de Banco Chinchorros, Isla mujeres y Arrecife Alacranes. Con la finalidad de determinar la variabilidad del ADN mitocondrial y analizar la estructura genética poblacional del caracol marino *S. gigas*, en la Península de Yucatán. Se colectaron un total 123 individuos en el mes de agosto del 2000: Isla Mujeres 41, en Arrecife Alacranes 36 y en Banco Chinchorro 46. Se empleó la técnica de PCR para amplificar un fragmento 581 pb del ARN ribosómico (rARN) de las subunidad 16S del ADN mitocondrial. Se buscó el polimorfismo en base a RFLP's usando una batería de tres enzimas de restricción. Los análisis estadísticos se efectuaron utilizando el programa de genética de poblaciones denominado Arlequín ver 2.000. Los parámetros de los FST de Wright (1965) estimados entre las tres poblaciones muestran una diferenciación ó estructuración, entre la población del Golfo de México Arrecife Alacranes con respectos a las dos poblaciones del Caribe Mexicano: Isla Mujeres y Banco Chinchorro (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de FST por pares de poblaciones.

	A. Alacranes	B. Chinchorro
B. Chinchorro	0.61637 **	
I. Mujeres	0.63703 **	-0.00854

La población con diversidad genética significativa fue Arrecife Alacranes (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de diversidad genética.

Población	Diversidad genética
A. Alacranes	0.3984 +/- 0.0812 **
I. Mujeres	0.3305 +/- 0.0817
B. Chinchorro	0.3710 +/- 0.0820

Con respecto al flujo genético es infinito entre las localidades del Caribe (Isla Mujeres y Banco Chinchorro, y el flujo genético de las localidades de Caribe (Isla Mujeres y Banco Chinchorro) hacia la localidad del Golfo (Arrecife Alacranes) es reducido (Tabla 3).

Tabla 3. Valores de flujo genético.

	A. Alacranes	B. Chinchorro
B. Chinchorro	0.31120	-
I. Mujeres	0.28489	$\mu?$ (infinito)

Bajo los supuestos anteriores los sitios del Caribe Mexicano pertenecen a la misma población, y la localidad de Arrecife Alacranes en el Golfo de México a otra población. Estos resultados son una base científica para que las autoridades pesqueras efectúen un manejo adecuado y por separado para cada población.

PALABRAS CLAVES: ADN mitocondrial, estructura genética *Strombus gigas*.

INTRODUCCION

El concepto del "stock" es importante para la sociedad porque ayuda a manejar los recursos pesqueros desde un punto de vista razonado y científico, para uso alimenticio y también para preservar la diversidad genética (Booke 1981). Se han sondeado numerosas definiciones del concepto "stock" a lo largo de la literatura de las pesquerías. Aunque todavía existen quienes consideran a los "stock" como meras unidades de explotación (Royce 1984), el interés mundial de poder definir el concepto "stock" con una base biológica está reflejado en las memorias del Symposium sobre el concepto "stock" (Berst y Simon 1981). Inssen et al. (1981) definen "stock" como un grupo intraespecífico de individuos que se reproducen al azar con integridad biológica espacial y temporal. Desde un punto de vista pesquero, esta integridad se refiere a una homogeneidad en las tasas de reclutamiento crecimiento y mortalidad (Cushing 1968). Desde un punto de vista genético, la integridad implica un acervo genético en común que debe mantenerse diferenciado de otros "stock" (Kutkuhn 1981). Aunque en su forma presente el concepto del "stock" describe las características de una unidad homogénea de la población que particularmente es asumida para los propósitos de manejo. Por consiguiente el concepto "stock" en su forma actual define a grupos semi-discretos

de peces con algunos atributos definibles de interés para el manejo (Begg et al. 1999).

La mayoría de las especies consisten de grupos de individuos que están de cierta forma aislados uno del otro. Los mecanismos de aislamientos pueden ser: geográficos, ecológicos o etológicos y el grado de aislamiento varia entre las especies y sus poblaciones que lo componen. Las especies locales típicamente exhiben algún grado de diferenciación genética, y el patrón de distribución de estas diferencias genéticas entre las poblaciones normalmente es denominado estructura genética poblacional. Esta estructura genética poblacional es el parámetro más fundamental de información para las especies que requieren manejo de sus recursos de conservación (Richardson et al. 1986, Slatkin 1987).

La estrategia por conservar la variación genética dentro de las especies depende de la estructura genética de cada especie. La extinción de una población en particular puede tener un efecto pequeño en los recursos genéticos global de una especie que sólo exhibe menor o ninguna divergencia entre las poblaciones constitutivas. En contraste, una extirpación de una especie con estructura genética diferenciadas implica la pérdida de una porción significativa del "pool" genético de esa especie (Allendorf et al. 1987).

En efecto, las especies que constituyen un solo "stock" en un área muy amplia de océano deberán ser manejadas de manera diferente a aquellas especies constituidas por "stock" discretos que habitan un área particular y que raramente migran de un lugar a otro. De tal manera, el hecho de que existan especies altamente migratorias y con fases inmaduras con amplias capacidades de dispersión ha impulsado investigaciones cada vez mas detallada para explicar el fenómeno, provocando gran discusión el saber si estas especies están estructuradas en subpoblaciones (Allendorf et al. 1987).

Estos aspectos pueden aplicarse al caracol marino (*Strombus gigas*, Linnaeus 1758). Este organismo es un recurso de considerable importancia económica y amplio consumo en toda la región del Caribe.

En los últimos años se han realizado avances significativos en el conocimiento de la biología y potencial de cultivo de este recurso, al mismo tiempo se han desarrollado varios programas de manejo, como las regulaciones que se han propuesto, las cuales, van desde el cierre total de la pesquería, hasta el uso de talla límite de captura, períodos de veda, cuotas de captura y restricciones en el manejo en los artes de pesca (Appeldoorn y Rodríguez 1994, Rodríguez 1999). Todos estos estudios de manejo son tan importantes como los estudios científicos basados en la determinación del manejo del "stock" mediante análisis de la estructura genética poblacional de este recurso pesquero.

Por todas estas características y con la finalidad de gestionar su pesquería en la región del Gran Caribe. Varios investigadores han realizado estudios de genética de poblaciones de *S. gigas* a lo largo del Caribe. Sus resultados indicaron que el caracol marino constituye una sola población no estructurada, tomando en cuenta muestras colectadas desde Belice hasta Santa Lucia en las Antillas Menores,

aunque sus estudios no incluyeron muestras de la costa de la Península de Yucatán México, (Mitton, 1989).

Por esta razón, el objetivo de este trabajo esta enfocado a determinar la variabilidad del ADN mitocondrial, analizar la estructura genética y el flujo genético por medio de analizar el polimorfismo del ADN mitocondrial mediante los Polimorfismos en Longitudes de los Fragmentos de Restricción (RFLP's), usando enzimas de restricción en poblaciones del caracol marino *Strombus gigas*, en la Península de Yucatán de muestras colectadas en diferentes localidades como Banco Chinchorro, Isla Mujeres y Arrecife Alacranes, con la finalidad de saber si estas poblaciones son homogéneas o si están estructuradas.

MATERIALES Y METODOS

Area de Estudio

Los organismos fueron colectados en tres áreas de la Península de Yucatán. Parque Nacional Arrecife Alacranes al Norte de la Península de Yucatán, Isla Mujeres en el Norte de Quintana Roo y la Reserva Ecológica Banco Chinchorro en el Sur de Quintana Roo.

Arrecife de Alacranes en las costas de Yucatán — (Figura 1), esta situado aproximadamente 72 millas (130 Km.) de la costa del Norte de la Península de Yucatán entre los 22°37' y 22°22' Latitud Norte y los 89°33' y 89°48' Latitud Oeste. Hay seis islas en fila, la isla principal es Isla Pérez, donde se localiza el faro, las otras son: Desterrada, Chica, Pájaros, Muertos y Desaparecida, esta ultima isla es una batería de arena que aparece durante mareas bajas, y su altura sobre el nivel del mar es dada por el sedimento que fluye. En esta área existen agregaciones de *S. gigas* pero sobre las cuales desde 1987 la Secretaría de Pesca decreto la veda permanente como medida de protección del recurso (Rodríguez 1994). Los caracoles se capturaron en las inmediaciones de Isla Pérez.

Isla Mujeres — (Figura 1), es una pequeña isla enclavada en la parte noroeste del Estado de Quintana Roo y se localiza entre los 21°11' y 21°15' Latitud Norte y los 86°41' y 86°45' Latitud Oeste en donde se encuentran agregaciones de caracoles marinos pero ya muy diezmados debido a la gran presión de pesca y a la elevada actividad turística de la zona, esto ha propiciado que los organismos se encuentren a profundidades superiores a los veinte metros. En esta zona, la secretaria de pesca desde 1991 decretó la veda del recurso (Rodríguez 1994).

Banco Chinchorro se encuentra en la zona Sur de Quintana Roo — (Figura 1), esta localizado en los 18° 47' -18° 23' Latitud Norte y 87° 14' -87°27' Longitud Oeste. Este banco es un complejo arrecifal localizado frente a la costa Sureste del Estado de Quintana Roo, entre las poblaciones de Río Indio y Xcalac. Se encuentra separado casi 30 km. del continente por un gran canal con profundidades que

alcanzan hasta los 1000 m (Jordán y Martín 1987). Tres zonas bien definidas se encuentran en este arrecife Cayo Lobos, Cayo Norte y Cayo Centro, los cuales es el sitio de campamento de los pescadores y en cuyas inmediaciones se capturaron los organismos. Es la única zona del Caribe mexicano en donde existen las mayores agregaciones de *Strombus gigas* y en donde la captura por cuota del caracol marino (Rodríguez 1994).

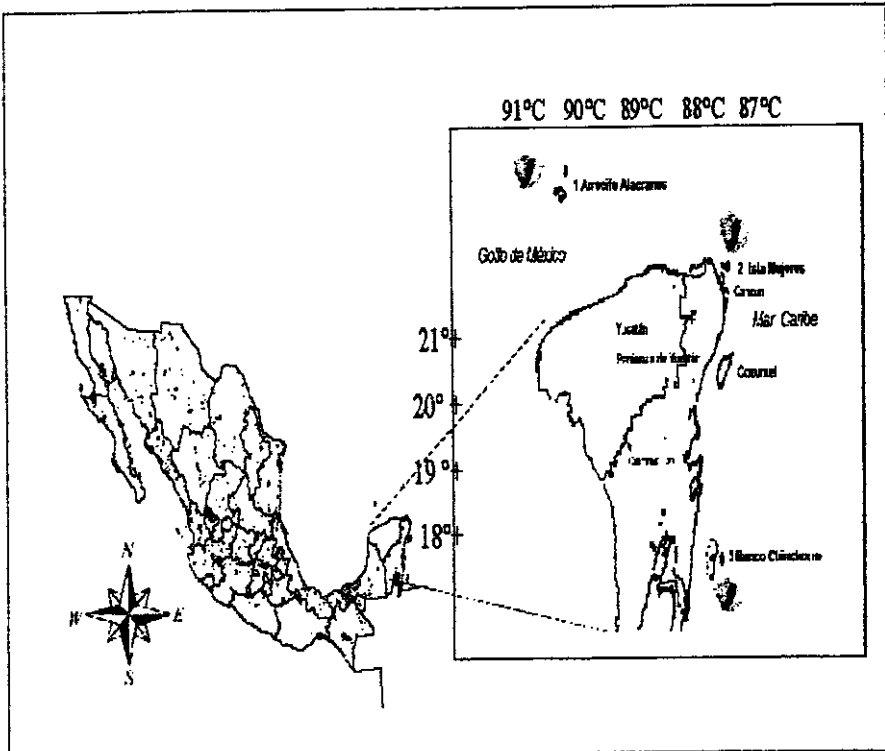


Figura 1. Sitios de colecta de *Strombus gigas* en la Península de Yucatán (1. Arrecife Alacranes, 2 Isla Mujeres y 3 Banco Chinchorro).

Colecta

Las colectas se realizaron por buceo libre. Se colectaron un total 123 organismos de forma aleatoria. En Isla Mujeres 41, en Arrecife Alacranes 36 y en Banco Chinchorro 46. Cada organismo se diseccionó y se le extrajo el corazón. Los corazones de cada organismo fueron almacenados en tubos criogénicos y se transportaron en nitrógeno líquido al laboratorio de Recursos Marinos y Agropecuarios del Instituto Tecnológico de Mérida para su análisis posterior.

Extracción del ADN Total

Para la extracción del ADN total del tejido se utilizó un kit denominado "Dneasy Tissue" marca (Giagen) siguiendo el protocolo que indicó el Kit. La concentración del ADN total se realizó por comparación de bandas en geles de agarosa al 0.8% y teñidos con bromuro de etidio.

Reacción en Cadena de Polimerasa

La utilización de los siguientes "primers" 16H1: 5' CTC CGG TCT GAA CTC AGA TCA CGT AGG 3' y 16L1: 5' CTG ACC GTG CAA AGG TAG CGT AAT CAC T 3' (Hillis et al. 1996) sintetizados por la compañía (GibcoBRL) los cuales sirvieron para amplificar un fragmento de la región 16S RNA ribosomal de genoma mitocondrial de aproximadamente 581 bp. La amplificación se realizó con un termociclador Perkin – Elmer (Gene Amp "PCR" System 2400). La concentración de los componentes para una reacción 1X con un volumen total de 50 µl muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes para llevar a cabo la amplificación de "PCR".

Componente	Marca	Concentración	Cantidad
Mg Cl ₂	Promega	25 mM	3.0 µl
Buffer	Promega	10 X	5.0 µl
Primer I	Gibco BRL	20 mM	2.5 µl
Primer II	Gibco BRL	20 mM	2.5 µl
DNTP mix	Promega	10 mM	1.0 µl
Taq DNA polimerasa	Promega	5 u/µl	0.4 µl
Agua ultrapura estéril libre de nucleasas	Promega		32.6 µl
ADN MOLDE			3.0 µl
		Total	50 µl

La amplificación de este fragmento de ADN se realizó siguiendo los protocolos reportados por Hillis et al. (1996) incluyendo un total de 35 ciclos con las siguientes temperaturas y tiempos (Tabla 2).

Tabla 2. Características en temperatura y tiempo del "PCR".

Etapas	Temperatura y tiempo
Desnaturalización de ADN	94 °C por 2 minutos
	94 °C por 30 segundos
Alineación de las cadenas de ADN	48 °C por 30 segundos
Extensión de las cadenas de ADN	72 °C por 1 minuto
	72 °C por 7 segundos

Condiciones de Electroforesis

La migración de los productos de "PCR", se realizaron en geles de agarosa al 0.8 % en una cámara horizontal con Buffer TAE 1X a 60 miliAmperes durante 90 minutos. Los fragmentos de ADN fueron estimados con un marcador de peso molecular (50 pb DNA Step lader, promega), la tinción se llevó acabo con bromuro de etidio y visualizado bajo luz UV y fotografiado con film polaroid® (Figura 2).

pb

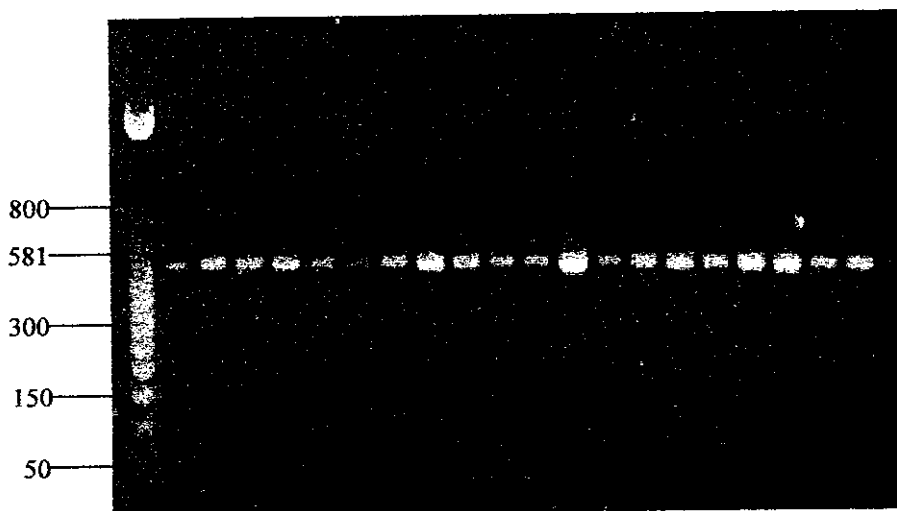


Figura 2. Fotografía que muestra los productos amplificados correspondientes al segmento 16S rRNA del genoma mitocondrial de 20 muestras de caracol marino *Strombus gigas*. pb = pares de bases.

Digestión de los Productos de "PCR"

La búsqueda de polimorfismo en el fragmento amplificado, se realizó con 3 enzimas de restricción siguiendo las especificaciones proporcionadas por el fabricante (Promega). La digestión de todas las muestra fue hecha en un volumen total de 20 μ l. Con 2 μ l de buffer (proporcionados con las enzimas), 0.2 μ l de "Bovine Serum Albumin" (B.S.A), 0.5 μ l de enzima (10 u/ μ l l), 2.0 μ l del producto "PCR" y 15.3 μ l de agua estéril libre de nucleasas. La incubación se realizó en un baño maría programable a 37 °C durante toda la noche, con excepción para la enzima Taq I que se realizó a 65 °C.

Posteriormente se realizó la visualización de los perfiles de restricción, esto se llevó acabo en geles de agarosa al 2 % teñidos con bromuro de etidio. En los geles se observaron patrones de bandas correspondientes a los diferentes fragmentos del ADN obtenido de la digestión. Dicho patrones de bandas se denominan haplotipos

(Figuras 3, 4, y 5).

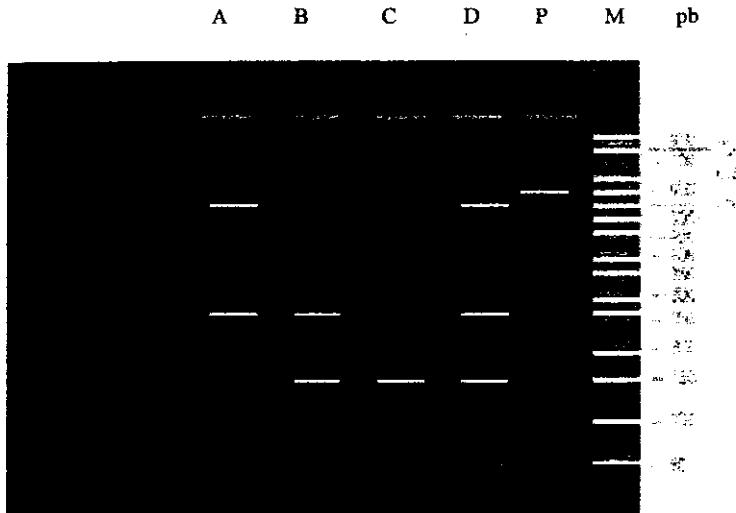


Figura 3. Fotografía que muestra los haplotipos obtenidos con la enzima de restricción Hind III del fragmento 16S rRNA del ADN del caracol marino *Strombus gigas* en las tres localidades de la Península de Yucatán. (Haplotipos = A,B,C, D; P = Amplicón; M = Marcador de Talla, pb = Pares de bases).

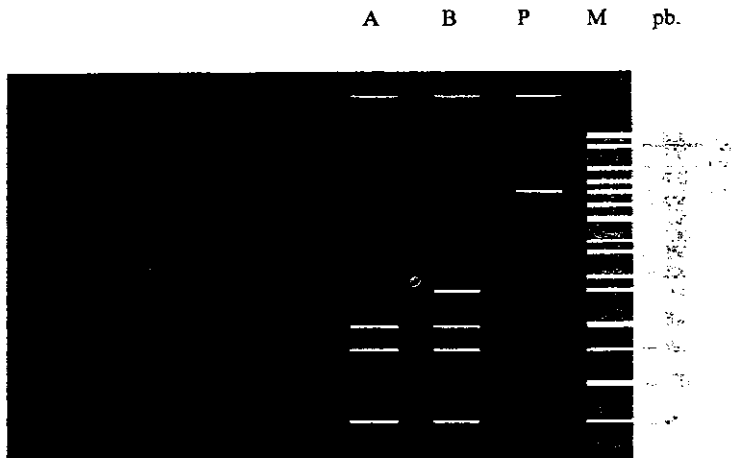


Figura 4. Fotografía que muestra los haplotipos obtenidos con la enzima de restricción Taq I del fragmento 16S rRNA del ADN del caracol marino *Strombus gigas* en las tres localidades de la Península de Yucatán. (Haplotipos = A, B; P = Amplicón; M = Marcador de Talla, pb = pares de bases).

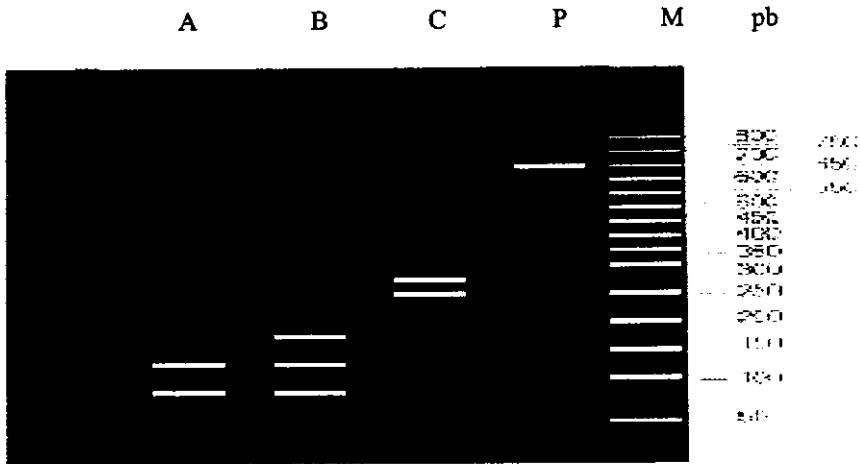


Figura 5. Fotografía que muestra los haplotipos obtenidos con la enzima de restricción *Alu I* del fragmento 16S rRNA del ADN del caracol marino *Strombus gigas* en las tres localidades de la Península de Yucatán. (Haplotipos = A, B, C; P = Amplicón; M = Marcador de talla, pb = pares de bases).

Si el patrón de bandas obtenido era igual para todos los individuos esta enzima se consideró monomórfica es decir la enzima no encontró sitio de corte en el fragmento y por lo tanto, no informativa para el objetivo de diferenciar poblaciones. Aquellas enzimas que arrojaron patrones de bandas diferentes entre los individuos se consideran polimórficas, y por lo tanto, útiles para los fines de genética de poblaciones.

La nomenclatura utilizada para este estudio es la reportada por (Acuña 2000).

A para el haplotipo más frecuente

B para el haplotipo menos frecuentes

C y D para los haplotipos que siguieron en frecuencia.

Posteriormente, se tomaron las fotografías de todas las digestiones realizadas así como monomórficas y polimórficas sobre un transluminador de luz UV (Marca Ultra Lum). Posteriormente, con las enzimas polimórficas se elaboró una matriz de datos enlistando el número de identificación del organismo y su haplotipo compuesto, es decir, la suma de los haplotipos que arrojaron cada una de las enzimas polimórficas.

Tratamientos Estadísticos

Para los análisis estadísticos de los datos del ADN mitocondrial, se utilizó el programa computacional Arlequín (Schneider et al. 2000), el cual permite calcular a partir de frecuencias haplotípicas parámetros como la diversidad genética,

estructuración genética de poblaciones utilizando los índices de fijación (F estadísticos) de Wright (1951,1965) y sus estimadores de Weir y Cockerman (1984). También se calcularon distancias genéticas de Reynolds et al. (1983). Finalmente, con la información obtenida se comparó con las características de las corrientes oceánicas del Golfo de México y el Caribe con la finalidad de dar una explicación a los resultados y apoyar o rechazar la hipótesis aquí planteada para este estudio.

RESULTADOS

De las 14 enzimas de restricción utilizadas Hind III, Taq I y Alu I, resultaron ser polimórficas. Se obtuvieron un total de 7 haplotipos compuestos. La codificación original fué traducida a números presencia (1) y ausencia (0) de acuerdo a los perfiles de restricción que presento cada haplotipo. Por ejemplo, los haplotipos A, B, C y D producidos por digestión de Hind III (Figura 3) tuvieron un total de 3 bandas. Los haplotipos A y B de la digestión por Taq I produjeron 4 bandas (Figura 4). La digestión con Alu I produjo los haplotipos A, B, y C, con 5 bandas o fragmentos (Figura 5). De esta forma se obtuvieron los haplotipos compuestos (Anexo, Tabla 3), y finalmente la composición genotípica de cada uno de los 7 haplotipos como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición genotípica y patrón de restricción obtenidos a partir de haplotipos compuestos del fragmento 16S rRNA mitocondrial del caracol marino *Strombus gigas*.

Haplotipo	Composición Genotípica	Patrón de Restricción.
Mt 1	BAA	011011100011
Mt 2	BAB	011011100111
Mt 3	DAA	111011100011
Mt 4	AAA	110011100011
Mt 5	AAB	110011100111
Mt 6	ABA	110111100011
Mt 7	BAA	011011111000

Se realizó un análisis estadístico preliminar (F_{ST} por pares de poblaciones) con el paquete computacional Arlequín (Schneider et al. 2000) para comparar entre sí las poblaciones muestreadas en la Península de Yucatán. La población del Golfo de México (Arrecife Alacranes) presentó valores de F_{ST} altamente significativos ($p < 0.05$) cuando se comparó con las poblaciones del Caribe (Isla Mujeres y Banco Chinchorro). De esta forma el análisis indicó que existe una separación entre las poblaciones del Golfo de México y el Caribe Mexicano (Tabla 6). Las poblaciones de Banco Chinchorro e Isla Mujeres no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$), esto infiere que no existe una separación entre estas dos poblaciones.

Tabla 6. Valores de FST obtenido por la prueba de diferencia por pares de poblaciones Calculados a partir de las frecuencias de haplotipos del fragmento 16S rRNA del ADNmt del caracol marino *Strombus gigas* en la Península de Yucatán.

	Arrecife Alacranes	Banco Chinchorro
Banco Chinchorro	0.61637 **	
Isla Mujeres	0.63703 **	-0.00854

** : significativo, nivel de significancia = 0.05.

Variabilidad Genética Intrapoblacional

A continuación se detallan los resultados obtenidos del análisis de variabilidad genética sobre los haplotipos del fragmento 16S rRNA del ADNmt del caracol rosado *S. gigas* en las tres poblaciones de la Península de Yucatán. Se calcularon los siguientes parámetros: el número de haplotipos por población (Nh), las frecuencias haplotípicas y la diversidad genética.

En las tres poblaciones se observaron tres haplotipos. En Arrecife Alacranes se observaron los haplotipos (mt 4, mt 5, y mt 6); en Isla Mujeres los haplotipos (mt 1, mt 2 y mt 7); y en Banco Chinchorro los haplotipos (mt 1, mt 2, mt 3) como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Número de haplotipos por población (Nh) para el fragmento 16S rRNA del ADNmt del caracol marino *Strombus gigas* en tres poblaciones.

Población	N	Nh
Arrecife Alacranes	36	3
Isla Mujeres	41	3
Banco Chinchorro	46	3

Otra forma para la evaluación del polimorfismo genético en RFLP's es estimar la frecuencias con que cada haplotipos se presenta en las poblaciones. En este estudio se calcularon las frecuencias haplotípicas (Tabla 8). Como se observa en esta tabla 8, los únicos haplotipos que fueron compartidos son los haplotipos (mt 1 y mt 2) con Isla Mujeres y Banco Chinchorro. Los haplotipos mt 4, mt 5 y mt 6 fueron exclusivos para el Arrecife Alacranes. Lo que demuestra una clara diferenciación entre la región del Caribe y Golfo de México.

Tabla 8. Frecuencias haplotípicas para RFLP's del fragmento 16S rRNA del ADNmt del caracol marino *Strombus gigas* en las tres poblaciones.

Haplotipos	Arrecife Alacranes	Isla Mujeres	Bancho Chinchorro	Sítios de Restricción
mt 1	0	0.804878	0.782609	011011100011
mt 2	0	0.170732	0.130435	011011100111
mt 3	0	0	0.086957	111011100011
mt 4	0.750000	0	0	110011100011
mt 5	0.222222	0	0	110011100111
mt 6	0.027778	0	0	110111100011
mt 7	0	0.024390	0	011011111000

Al estimar la diversidad genética (Tabla 9). Se observó que las tres poblaciones estuvieron en el mismo rango de índice de diversidad genética, lo cual para este tipo de marcador es definida como la probabilidad que dos haplotipos escogidos al azar sean diferentes en la muestra (Nei 1987).

Tabla 9. Diversidad genética del fragmento 16S rRNA del ADNmt del caracol marino *Strombus gigas* en las tres poblaciones.

Población	Diversidad Genética
Arrecife Alacranes	0.3984 +/- 0.0812
Isla Mujeres	0.3305 +/- 0.0817
Banco Chinchorro	0.3710 +/- 0.0820

Estructuración Genética Poblacional

En el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), se tomaron 2 Regiones. Las poblaciones del Caribe (Isla Mujeres y Banco Chinchorro), se les agrupo en la "Región Caribe" por no presentar diferenciación entre pares de poblaciones y la población del Golfo de México (Arrecife Alacranes), que si presentó diferenciación entre pares de poblaciones con el resto de las poblaciones se le denominó "Región Golfo de México" (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis jerárquico anidado de la variación molecular entre las distancias genéticas de los haplotipos del ADNmt del caracol marino *Strombus gigas* en las poblaciones de la Península de Yucatán.

Componentes variantes	G.L.	Suma de cuadrados	Variancia	Porcentaje de variación
Entre regiones (Caribe vs Golfo de México)	1	48.807	??0.95354	81.56
Entre poblaciones dentro de regiones	1	0.251	<0.00083	<0.07
Dentro de poblaciones	120	25.771	0.21479	18.37
Total	122	74.829	1.16913	100 %

El AMOVA, reveló una mayor variación del ADNmt entre las dos regiones con un 81.56 % y una porción significativa de 18.37 % fue atribuido a las diferencias entre las poblaciones, pero la variación entre poblaciones dentro de las regiones fue insignificante con un porcentaje de variación de < 0.07 %.

Distancia Genética y Estimación de Flujo Genético

También con la opción Estructura Genética de Arlequin (Schneider et al. 2000) se calcularon las distancias genéticas mediante la formula $D = -\ln(1-FST)$ de Reynolds et al. (1983). Se observó que ambos valores D de Arrecife Alacranes fueron altamente significativo con respecto a Banco Chinchorro e Isla Mujeres ($D = 0.95809$, $p < 0.05$; $D = 1.01345$, $p < 0.05$), Banco Chinchorro con Isla Mujeres presentaron valores no significantes. De esta manera podemos decir que no existe distancia genética entre las dos poblaciones del Caribe (Tabla 11) pero si existe comparándolo con la población de Arrecife Alacranes.

Tabla 11. Distancia genética de (Reynolds 1983) entre las poblaciones en estudio.

	Arrecife Alacranes	Banco Chinchorro
Banco Chinchorro	0.95809	
Isla Mujeres	1.01345	0.00000

Al estimar el flujo genético entre las poblaciones se calculó el número de migrantes absolutos intercambiados entre las poblaciones (N_m) utilizando la forma: $M = (1-F_{ST})/(2F_{ST})$, donde $M = N_m$ para poblaciones haploides (Schneider, 2000). Al estimar el flujo genético se asume que dos poblaciones de tamaño N intercambian una fracción m de migrantes en cada generación y que el índice de mutación u es despreciable, comparado con el índice de mutación m . Valores bajo de flujo genético (0.311120 y 0.28489) indican que el número de migrantes de *Strombus gigas* entre las poblaciones del Caribe y el Golfo es reducido, y el flujo genético entre las poblaciones de *S. gigas* del Caribe es infinito (Tabla 12).

Tabla 12. Valores de estimación de flujo genético entre las poblaciones en estudio.

	Arrecife Alacranes	Banco Chinchorro
Banco Chinchorro	0.31120	-
Isla Mujeres	0.28489	μ (infinito)

DISCUSIÓN

A continuación se discuten los análisis genéticos obtenidos de los RFLPs del ADNmt del caracol marino *Strombus gigas*.

El nivel de polimorfismo genético intrapoblacional fué igual para las tres poblaciones estudiada ya que todas ellas presentaron tres haplotipos. Isla Mujeres y Banco Chinchorro compartieron los haplotipos (mt 1 y mt 2). La frecuencia de estos haplotipos fue gradual aumentando en dirección Sur-Norte a la largo de Caribe Mexicano según el comportamiento de la Corriente de Caribe.

La diversidad genética es ampliamente conocida como el mecanismo de seguridad que le permite a una especie lidiar con enfermedades, estrés y condiciones ambientales cambiantes. Esta diversidad genética estimada, mostró que la población más diversa es Arrecife Alacranes, seguida por Banco Chinchorro e Isla Mujeres. Los valores de diversidad genética encontrado en *S. gigas* en RFLPs del ADN mitocondrial es diferente a los reportados para otras especies de moluscos como la ostra americana, *Crassostrea virginica*; $H_e = 0.850$ (Reeb y Avise 1990).

La estructura genética encontrada entre las poblaciones sujetas a estudio de *S. gigas* fue una de los aspectos más interesantes del presente trabajo. Como se puede ver en los resultados (Tabla 6, Tabla 10), los parámetros de los F_{ST} estimados entre las tres poblaciones mostraron una diferenciación (estructuración) entre la población del Golfo de México (Arrecife Alacranes) con respectos a las dos poblaciones del Caribe mexicano (Isla Mujeres y Banco Chinchorro).

El flujo genético es infinito entre las localidades del Caribe (Isla Mujeres y Banco Chinchorro) y el flujo genético entre las localidades de Caribe (Isla Mujeres y Banco Chinchorro) comparado con la localidad del Golfo (Arrecife Alacranes)

es reducido. La existencia de flujo genético tiende a reducir las diferencias genéticas entre poblaciones locales es decir tienden a la homogeneidad (Slakin 1991). Bajo este supuesto, las localidades de Caribe pertenecen a la misma población y la localidad de Arrecife Alacranes a otra población distinta.

Con respecto a las distancias genéticas, los valores más significativos de D se encontraron para Arrecife Alacranes y Banco Chinchorro ($D = 0.95809$, $p < 0.05$); Arrecife Alacranes e Isla Mujeres ($D = 1.01345$, $p < 0.05$) (Tabla 11). Para otras especies donde se utilizó el ADN mitocondrial, como el Huachinango (*Lutjanus campechanus*) donde sus poblaciones se distribuyen a lo largo del Golfo de México, también se encontraron valores de D similares ($D = 0.9140$) (Gold et al. 1997). Esto es debido a la posibilidad de que el Huachinango no presenta una sola población en el Golfo de México al igual que el caracol marino, *Strombus gigas*.

Los resultados encontrados en este estudio, son diferentes a los encontrados por Mitton (1989), quien analizó un amplio rango de sitios en el Atlántico incluyendo la región del Caribe, usando como marcador genético a las isoenzimas, encontrando que las poblaciones del Caribe son unidades homogéneas y solo la población de Bermudas se diferencia de las poblaciones del Caribe.

La estructuración genética encontrada en este estudio con las poblaciones consideradas de las localidades de la Península de Yucatán con esta especie ha sido a una menor escala geográfica, esto es considerando la porción del Golfo de México correspondiente al Estado de Yucatán y el Caribe Mexicano correspondiente al Estado de Quintana Roo. Por esta razón, tratamos de explicar los resultados obtenidos. De esta forma se contó en este estudio con poblaciones que representan únicamente a la Península de Yucatán, México.

La mayoría de las poblaciones de organismos marinos invertebrados y peces viven en un ambiente abierto y sin barreras físicas, donde existe un flujo continuo de larvas y material genético. En muchos casos es importante conocer los patrones de circulación de las corrientes oceánicas y costeras que permiten este transporte larval constante dentro y hacia afuera de la región. Es así, que la dispersión larval a través de corrientes ha sido uno de los parámetros más importantes para establecer la diferenciación genética en las poblaciones marinas.

Tomando en cuenta lo mencionado previamente hay que considerar que la corriente del Caribe se introduce al Golfo de México a través del Canal de Yucatán, esta se dispersa en dos direcciones principalmente. Una corriente principal atraviesa todo el Golfo hasta llegar a las costas de Lousiana y Mississippi en los Estados Unidos y la otra hacia el estrecho de la Florida que se denomina la corriente del Golfo de México y llega hasta el Norte de Europa.

Parte de la corriente del Caribe llega a la localidad de Banco Chinchorro y predomina esta misma corriente del Caribe, en la localidad de Isla Mujeres. En Arrecife Alacranes la corriente del lazo del Golfo de México y la corriente de Yucatán llegan con menor intensidad. Esta separación de corrientes entre el Caribe y Golfo de México podría estar provocando la separación del caracol marino *Strombus gigas* en dos poblaciones. Los caracoles muestreado en Banco Chinchorro e Isla Mujeres corresponden a la misma población, esto puede ser

debido a que la corriente del Caribe al ser ascendente hacia el norte y al unirse a la corriente de Yucatán en el primer punto que es Isla Mujeres lo cual estarían propiciando la dispersión de larvas de *S. gigas* dando como resultados la homogenización de estas dos localidades en un sola población.

Con respecto a los caracoles colectados en Arrecife Alacranes corresponden a una misma población debido a los altos valores de distancia genética, esto puede atribuirse a que es la localidad más distante y al comportamiento de las corriente en la zona; en esta localidad por su situación geográfica y geología marina la corriente de Yucatán llega con escasa intensidad, por consiguiente el aporte de larvas es menor.

En esta región, claramente se observó que el flujo genético no estuvo definida exclusivamente por las corrientes superficiales principales que operan en la región, y podría esperarse que procesos locales hayan permitido el asentamiento de larvas y su posterior aislamiento que a final de cuentas nos dé la pauta para establecer la diferenciación y valores de distancia de esta población con las otras analizadas en las otras localidades. Esto ha ocasionado que las costa de los Estados de Campeche y Yucatán no exista la pesquería de ninguna población de *S. gigas* y solamente para Yucatán se encuentre en la Localidad de Arrecife Alacranes.

CONCLUSIONES

El aporte científico que se obtuvo de la presente investigación es:

- i) La variabilidad genética intrapoblacional y la diferenciación genética entre poblaciones del caracol marino *Strombus gigas* en la Península de Yucatán estimados a partir de haplotipos de RFLP's de ADN mitocondrial, permitieron diferenciar dos poblaciones, la población de Arrecife Alacranes en el Golfo de México y las localidades de Isla Mujeres y Banco Chinchorro como una sola población en el Caribe mexicano.
- ii) Desde una base científica de genética de poblaciones permite a las autoridades pesqueras considerar en sus planes de manejo de este recurso como dos poblaciones separadas para la Península de Yucatán.
- iii) Con relación a la diversidad genética, la población que mostró más diversidad genética fue la de Arrecife Alacranes. Esto permite recomendar a esta población para la práctica de la maricultura en todas sus etapas.

El flujo genético y la distancia genética también permitieron establecer la diferencia entre la poblaciones de Arrecife Alacranes y las del Caribe mexicano (Isla mujeres y Banco Chinchorro).

LITERATURA CITADA

- Acuña-Leal, C.D. 2000. Análisis de la estructura de las poblaciones de Sábalo (*Megalops atlanticus*) en las costa del Golfo de México. Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria. Tesis de Licenciatura en Biología.
- Allendorf, F.W., N. Ryman, and F.M. Utter. 1987. Genetics and fishery management: Past present, and future. Pages 1-19 in: Ryman, N. and F. Utter

- (eds.). *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington Press, Seattle, Washington USA. 420 pp.
- Appeldoorn, R.S. 1991. History and recent status of the Puerto Rico conch fishery. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 41:267.
- Avise, J.C. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Systematic Zoology* 23: 465-481.
- Avise, J.C. and R.A. Lansman. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations on higher animals. Pages 147-164 in: Nei, M. and R.K. Koehn (eds.). *Evolution of Genes and Proteins*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts USA.
- Avise, J.C. 1986. Mitochondrial DNA and evolutionary genetic of higher animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* B312:325-342.
- Begg, G.A., K.D. Friedland, and J.B. Pearce. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries: an overview. *Fisheries Research* 43:1-8.
- Berst, A.H. and R.C. Simon (eds.). 1981. Proceedings of the stock technical report of fisheries and aquatic sciences concept symposium. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38(12).
- Booke, H.E. 1981. The conundrum of the stock concept - are nature and nurture definable in fishery science? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38:1479-1480.
- Cushing, D.H. 1968. *Fisheries Biology, a Study in Population Dynamics*. University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin USA. 200 pp.
- Gold, J.R., F. Sun, and R. Richardson. 1997. Population structure of red snapper from the Gulf of Mexico as inferred from analysis of mitochondrial DNA. *Transactions of the American Fisheries Society* 126:386-396.
- Hillis, D. M. C, Moritz y B.K. Mable. 1996. *Molecular Systematics (2nd Edition)*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts USA.
- Kutkuhn, J.H. 1981. Stock definition as a necessary basis for cooperative management of Great Lakes fish resources. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38:1476-1478.
- Mitton, J.B., C.J. Berg, Jr., and K.S. Orr. 1989. Population structure, larval dispersal, and gene flow in the queen conch, *Strombus gigas*, of the Caribbean. *Biological Bulletin* 177:356-362.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, New York USA.
- Reeb, C.A. and J.C. Avise. 1990. A genetic discontinuity in a continuity distributed species: mitochondrial DNA in the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Genetics* 124:397-406.
- Reynolds, J., B.S. Weir, and C.C. Cockerham. 1983. Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105:767-779.
- Richardson, B.J., P.R. Baverstok, M. Adams. 1986. *Allozymes Electrophoresis: A Handbook for Animal Systematics and Population Structure*. Academic Press, Sydney, Australia. 410 pp.

- Rodríguez Gil, L.A. 1994. Analysis of the evolution of the queen conch fishery in two states of the Yucatan peninsula, Mexico and in a fisherman cooperative. Pages 113-124 in: Appeldoorn, R.S. and B. Rodríguez Q. (eds.). *Queen Conch Biology, Fisheries and Mariculture*. Fundación Científica Los Roques, Caracas, Venezuela.
- Rodríguez, L.A. 1999. Parámetros de crecimiento, mortalidad y el estado de la pesquería basados en la distribución de los grosos del labio de una población adulta de caracol blanco *Strombus costatus* Gmelin en la costa de la Península de Yucatán. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 45:217-233.
- Royce, W.F. 1984. *Introduction to the Practice of Fishery Science*. Academic Press, New York, New York USA. 428 pp.
- Schneider, S., D. Roessli, and L. Excoffier. 2000. Arlequin ver 2.000: A Software for population genetics data análisis. Genetics and Biometry laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural population. *Science* 236:787-792.
- Weir, B.S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-1370.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15:323-354.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.