

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
Facultad de Ciencias Marinas

Instituto de Investigaciones Oceanológicas

Posgrado en Ecología Molecular y Biotecnología



**Caracterización morfogenética de *Lottia gigantea* (Sowerby, 1834)
provenientes de cuatro localidades de la Isla Cedros, B. C.,
México**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

Sue Yamilette Duran Gracia

Ensenada, Baja California, México 2017.

Caracterización morfogenética de *Lottia gigantea* (Sowerby, 1834) provenientes de cuatro localidades de la Isla Cedros B.C., México

Resumen

En el presente trabajo se realizó una caracterización de la morfometría y de la variabilidad genética a nivel alozímico del gasterópodo del intermareal rocoso *Lottia gigantea* (Sowerby, 1834) proveniente de Punta Norte, San Agustín, Punta Prieta y Punta Morro de Isla Cedros, Baja California, México. El análisis morfométrico se realizó empleando el Análisis de Componente Principales (ACP) y las Funciones Empíricas Ortogonales (FEOs). Los resultados indican que no existen diferencias morfométricas importantes entre los organismos; sin embargo, se evidenciaron disimilitudes en el carácter de la altura y el ancho del musculo, probablemente asociadas a la pendiente del intermareal y a la fuerza del oleaje en cada una de las diferentes localidades. En el análisis de variabilidad genética por medio de la electroforesis vertical en geles de bis-acrilamida aplicado para 14 loci provenientes de seis sistemas enzimáticos, los niveles de variabilidad genética son similares a los reportados en la literatura para moluscos en general. De acuerdo a la prueba F de Wrigth, los organismos provenientes de los cuatro sitios no se encuentran estructuradas genéticamente a nivel poblacional ($F_{st}=0.033$), debido a un alto flujo de genes entre las localidades con un N_m de 8 a 13 migrantes por generación y los valores de Identidad genética de Nei $I =$ desde 0.999 a 1. Desde una perspectiva integral, se demuestra que, no obstante de que están en condiciones ambientales diferentes, el análisis genético demuestra que se trata de una misma población con adaptaciones a nivel morfométrico, debidas probablemente a la pendiente y fuerza del oleaje de cada lugar. Este es el primer estudio donde se abarca una caracterización biológica con dos enfoques diferentes para la misma especie *Lottia gigantea*.

RESUME

In the present work a characterization of the morphometry and the genetic variability at allozyme level of the gastropod of the rocky intertidal *Lottia gigantea* (Sowerby, 1834) from Punta Norte, San Agustín, Punta Prieta and Punta Morro from Isla Cedros, Baja California, Mexico. Morphometric analysis was performed using Principal Component Analysis (ACP) and Orthogonal Empirical Functions (FEOs). The results indicate that there are no important morphometric differences between organisms; However, dissimilarities were evidenced in the character of the height and width of the muscle, probably associated with the intertidal slope and the strength of the waves in each of the different localities. In the analysis of genetic variability by means of vertical electrophoresis in bis-acrylamide gels applied to 14 loci from six enzymatic systems, the levels of genetic variability are similar to those reported in the literature for molluscs in general. According to the Wright F test, organisms from the four sites are not genetically structured at the population level ($F_{st} = 0.033$), due to a high gene flow between the localities with an $N_m = 8$ to 13 migrants per Generation and the values of Genetic Identity of Nei I = from 0.999 to 1. From an integral perspective, it is shown that, despite being in different environmental conditions, the genetic analysis shows that it is a same population with adaptations at the level Morphometric, probably due to the slope and force of the waves of each place. This is the first study that covers a biological characterization with two different approaches for the same species *Lottia gigantea*.

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN ECOLOGIA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGIA

**Caracterización morfogenética de *Lottia gigantea* (Sowerby, 1834)
provenientes de cuatro localidades de la Isla Cedros, B. C.,
México**

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

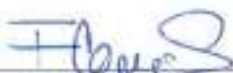
en

Ecología Molecular y Biotecnología

PRESENTA

SUE YAMILETTE DURAN GRACIA

Aprobada por:



Dr. Francisco Correa Sandoval
Director



Dr. Eduardo Santa María del Ángel
Sinodal



Dra. Ivone Giffard Mena
Sinodal



Dr. Faustino Camarena Rosales
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

El primer agradecimiento va para mi director de tesis Dr. Francisco Correa Sandoval, que me ayudo en todo momento y tuvo siempre la paciencia, amabilidad y confianza de apoyarme en cada proceso de esta tesis y en los problemas que enfrente en mi estadía en Ensenada. Además de darme la oportunidad de mejorar en todos los aspectos de mi vida.

Agradezco a los miembros del comité de tesis Dr. Eduardo Santa María del Ángel, Dra. Ivone Giffard Mena y al Dr. Faustino Camarena Rosales, por el apoyo y conocimientos brindados en cada proceso de la tesis, en las reuniones y sobre todo la calidad humana para ayudarme a mejorar cada aspecto de la tesis.

Un agradecimiento especial al Dr. Luis Manuel Enriquez Paredes por su comprensión y sobre todo su apoyo en uno de los momentos más difíciles de mi vida.

Quiero dar un agradecimiento al equipo de inmunología de CIAD Hermosillo, por ser los primeros en confiar en mí.

Gracias doctor Pingo usted fue un gran apoyo para comenzar mis sueños.

Un enorme agradecimiento a las personas que se volvieron mi familia estando aquí: Carmen, Itzel, Nallely, Zeila, Patricia, Alberto, Lex, Selma y Norma, porque me demostraron que aun en los momentos difíciles se puede reír y siempre que lo necesite estaban ahí como ángeles. Dentro de la familia que hice aquí quiero agradecer a Miss Pao por dejarme entrar a su vida y aceptarme primero como alumna, como hermana hasta ser casi mi madre, a Rebeca por ser mi compañera de locuras, de aventuras mi cómplice en todo momento y siempre estar cuando ocupaba un abrazo. Gracias a todo el equipo de Ignite, mis alumnas mis compañeros y compañeras de trabajo por brindarme momentos de felicidad.

Gracias a todas las personas que llegaron a mi vida y que engrandecieron mi mundo de una u otra manera: señora Sara, Señor Gume, Betty y Adrián, por darme un segundo respiro y abrazos con mucha calidez.

Gracias a todas las personas que confiaron en mí y apoyaron para estar aquí, a todas aquellas que están en Hermosillo y que nunca dejaron de creer de mí, ya sea por Messenger o whats siempre estaban en contacto conmigo dándome apoyo y felicidad. Sara, Kenia, Martha, Magy, Santos y Elihu los amo <3 espero que nuestra amistad siempre este presente porque es hermoso ser parte de sus vidas. Coral, Lupita, Fernanda, Fafer, Mel gracias por ser parte de mí y brindarme su amistad, gracias por ser familia gracias por existir gracias mis lolis. Gracias a esa persona que ya no está conmigo, pero que fue de gran ayuda y apoyo en mi camino hasta acá. No los he olvidado compañeritos del cubículo Sandra, Armando y Carlos gracias por hacerme reír y sobre todo compartir café, era mi parte favorita de la mañana.

Gracias amada familia <3 tías, tíos, abuelas y abuelo, gracias primas y primos por sus ánimos y su alegría con la que me recibían al llegar a casa. Gracias por el amor incondicional y único que nos ofrecieron a mi familia y a mí en el peor momento de nuestras vidas, sin ustedes no hubiese podido lograrlo.

Familia los amo (léase gritando); gracias mama y papa, gracias Ailyn mi amada hermana, por confiar en mí y en todo momento hacerme sentir especial y amada, por siempre responder a mis llamadas y venir a verme o ayudarme a llegar a ustedes y sobre todo consentirme como nadie más lo haría. Los amo con todo el corazón. Más ahora que nunca los amo. Gracias Emi por acompañarme en esta aventura y hacerme sentir en casa.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California, a la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas por permitir que culmine mi formación profesional en investigación y por otorgarme el grado de Maestro en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología. Mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haberme otorgado la beca.

Este trabajo de investigación estuvo financiado por la Coordinación de Posgrado e Investigación de la UABC por los proyectos 403/1/c/50/14 y 403/1/C/141/18.

DEDICATORIA

Esta tesis y la maestría se la dedico a los pequeños ángeles en el cielo



Ian y Gael

Te amo y te extraño hermano gracias por dejarme ser tu hermana.

Siempre estarás en mi corazón.

ALDAS

ÍNDICE

ÍNDICE	viii
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Biología de <i>Lottia gigantea</i>	5
2.2 Estrés térmico en los organismos	8
2.3 Variabilidad genética	11
2.4 Descripción del área de estudio	12
2.5 Distribución geográfica de <i>Lottia gigantea</i>	14
3. OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo General	17
3.2 Objetivos Particulares	17
4. MATERIALES Y METODOS	18
4.1 Análisis morfométrico	19
4.1.1 Obtención de los datos morfométricos	19
4.1.2 Análisis morfométrico preliminar	20
4.1.3 Análisis de Componentes Principales (ACP)	22
4.1.4 Análisis de Funciones Empíricas Ortogonales	26
4.2 Análisis genético	28
4.2.1 Electroforesis de alozimas	28
4.2.2.1 Extracción de Proteínas Solubles	28
4.2.3 Análisis electroforéticos	28
4.2.4 Electroforesis en Geles de BIS-poliacrilamida	29
4.2.4.1 Tinción e Interpretación de los zimogramas	30
4.2.5 Análisis de datos genéticos	33
	viii

5	RESULTADOS	35
5.1	Análisis morfométrico	35
5.1.1	Características merísticas	35
5.1.2	Análisis de Componentes Principales	36
5.2	Análisis genético	40
5.2.1	Frecuencias alélicas de <i>Lottia gigantea</i>	40
5.2.2	Frecuencias genotípicas, diferenciación de heterocigocis y equilibrio de Hardy-Weinberg	45
5.2.3	Distancias Genéticas de Nei (1978) entre las localidades de <i>L. gigantea</i>	55
5.2.4	Estadísticos F en <i>Lottia gigantea</i> .	55
6	DISCUSIÓN	59
6.1	Análisis morfométrico	60
6.2	Estructura genética poblacional	62
6.3	Enfoque multidisciplinario	66
7.	CONCLUSION	68
8.	FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	69
	LITERATURA CITADA	71

LISTA DE TABLAS

Tabla I Condiciones eléctricas y numero de loci resueltos por medio del análisis electroforético en geles de acrilamida en proteínas de organismos provenientes de cuatro localidades de isla Cedros.

Tabla II Valores promedio de los siete parámetros de las conchas de la lapa Lottia gigantea provenientes de cuatro localidades en isla Cedros (n= número de organismos recolectados para cada localidad; PN= Punta Norte, SA= San Agustín, PP= Punta Prieta, PM= Punta Morro; entre paréntesis () se indica la desviación estándar).

Tabla III. Los valores del Análisis de Componentes Principales con valores sin transformar para los siete parámetros morfométricos de la concha de la lapa Lottia gigantea provenientes de cuatro localidades en isla Cedros. 36

Tabla IV Los valores del Análisis de Componentes Principales con razones para los siete parámetros morfométricos de la concha de la lapa Lottia gigantea provenientes de cuatro localidades en isla Cedros. ACOMODA EL TAMAÑO PARA QUE QUEDEN EN EL MISMO RENGLON 38

Tabla V. Frecuencias alélicas en las cuatro localidades de la lapa Lottia gigantea (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro) en la isla de Cedros. N: número de individuos analizados; PGM-1 y PGM-2: Fosfoglucomutasa; MDH-1 y MDH-2: malato deshidrogenasa; PEP-1: péptidasa. 40

Tabla VI Comparación de frecuencias alélicas por locus entre pares de poblaciones por el método de cadena de Markov. Tabla 14a (PGM-1), b (PGM-2), c (MDH-1), d (MDH-2), e (PEP-1), f (PEP-2), g (PEP-3), h (PEP-4), i (PEP-5), j (PGI-1), k (IDH-1), l (HK-1), m (HK-2), n (HK-3), ñ (14 loci). Valor P (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro. Nivel de significancia: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, NS= no significativo. 44

Tabla VII Frecuencias genéticas en las cuatro localidades de la lapa *Lottia gigantea* provenientes de isla Cedros (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro). N: número de individuos analizados; χ^2 (g.l): valor de la prueba Ji-cuadrada. (Nivel de significancia 10*, p0.95 de 3.84; 5** p0.99 de 6.63; 1***, p0.999 de 10.8); P: probabilidad; D: deficiencia de heterocigotos; g.l.:2; 45

Tabla VIII Resumen de los principales estimadores de la variación genética en cuatro poblaciones de *Lottia gigantea* en Isla Cedros. SE: error estándar. 52

Tabla IX Comparación de frecuencias genotípicas por locus entre pares de poblaciones por el método de cadena de Markov. Tabla 6a (PGM-1), b (PGM-2), c (MDH-1), d (MDH-2), e (PEP-1), f (PEP-2), g (PEP-3), h (PEP-4), i (PEP-5), j (PGI-1), k (IDH-1), l (HK-1), m (HK-2), n (HK-3), ñ (14 loci). Valor P (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro. Nivel de significancia: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, NS= no significativo. ¡Error! Marcador no definido. 54

Tabla X Distancia genética de Nei (1978) (arriba de la diagonal) y similitud genética (debajo de la diagonal) para *Lottia gigantea* de cuatro localidades provenientes de isla Cedros (BIOSYS-1). 55

Tabla XI Valores de los índices Fis, Fit y Fst (Weir y Cockerham 1984), de la identidad por descendencia, para las poblaciones de *Lottia gigantea* en Isla Cedros. 56

Tabla XII Comparación por pares de poblaciones del estadístico de Fst (debajo de la diagonal) y valores de la distancia genética de Nei, 1978 (arriba de la diagonal) de la lapa *Lottia gigantea* en Isla Cedros (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro). 57

Tabla XIII Comparación por pares de poblaciones del estadístico de Fst (debajo de la diagonal) y número de migrantes Nm (arriba de la diagonal) de la lapa Lottia gigantea en Isla Cedros (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro). 58

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Zona del intermareal rocoso donde habita la lapa lottia gigantea. 1
- Figura 2 Características de la concha de Lottia gigantea indicando las estructuras consideradas para las medidas morfométricas. En su parte posterior se puede observar el ápice que utiliza como defensa del territorio con algas. 4
- Figura 3. Huella que deja la lapa Lottia gigantea al momento de comer algas de su territorio comúnmente llamado “jardín”. 6
- Figura 4. Representación de los diversos tamaños de los organismos de Lottia gigante de las cuatro localidades provenientes de isla Cedros. En orden de arriba abajo se encuentra, Punta Norte, San Agustín, Punta Prieta y Punta Morro. 9
- Figura 5. Punto de encuentro de zona biogeográficas. En el círculo verde se encuentra isla Cedros, presente en la zona de encuentro de las provincias biogeográficas. La flecha de color azul representa la Corriente de California y la flecha roja representa la Corriente Mexicana. 12
- Figura 6. Distribución actual de la lapa Lottia gigantea en el Pacífico Nororiental. Como extremo norte Crescent city y como extremo sur Bahía Tortuga 13
- Figura 7. Diagrama de flujo de las etapas desarrolladas en la presente investigación. 17

- Figura 8. Distribución de los organismos estudiados presentes en las cuatro localidades de isla Cedros. PN: Punta Norte, SA: San Agustín, PP: Punta Prieta y PM: Punta Morro. 19
- Figura 9. Ejemplo de las variaciones alozimicas en las proteínas según su estructura cuaternaria. 30
- Figura 10. Foto de un gel producto de la electroforesis para el sistema enzimático PGM. 30
- Figura 11. Distribución de las localidades de acuerdo al ACP, según sus similitudes en los siete parámetros: altura, largo exterior, ancho exterior, largo interior, ancho interior, largo de la línea muscular y ancho línea muscular (datos sin transformar) de la concha de la lapa *L. gigantea* de isla Cedros. 36
- Figura 12. Distribución de las localidades según sus similitudes de las razones de los siete parámetros: altura, largo exterior, ancho exterior, largo interior, ancho interior, largo de la línea muscular y ancho línea muscular parámetros medidos de la concha con respecto a largo interior de la lapa *Lottia gigantea* provenientes de cuatro localidades de isla Cedros. 38

1. INTRODUCCION

El intermareal rocoso es uno de los ambientes que presentan las condiciones de mayor estrés para los organismos, que están sujetos a cambios drásticos en diversos parámetros como la temperatura, fuerza hidrodinámica del oleaje, exposición de rayos UV, alta fluctuación de nutrientes y desecación en marea baja (Denny *et al.*, 2006). La zona del intermareal rocoso ha servido para el estudio de las comunidades ecológicas a lo largo de los años (Denny *et al.*, 2000), incluyendo aspectos de competencia y depredación, las que actúan de manera diferente en las distintas áreas de distribución geográfica, debido a cambios estacionales (Huey *et al.*, 2002) (Fig. 1).



Figura 1. Zona del intermareal rocoso donde habita la lapa *Lottia gigantea*.

Las especies características que habitan la zona del intermareal rocoso son resistentes a los cambios estacionales; esto es debido a su capacidad de tolerancia térmica que les permite resistir fluctuaciones constantes de temperatura en el día (Stillman y Somero 1996). Las variaciones drásticas con las cuales se enfrentan los organismos, determinan o influyen el grado de selección a nivel poblacional, al actuar como filtros selectivos en función de su rendimiento y capacidad para adaptarse. Los organismos pueden adoptar generalmente tres mecanismos no exclusivos (Huey *et al.*, 2002). El primer mecanismo utilizado puede ser el evadir o reducir el estrés modificando su comportamiento (cambiando de hábitat o conductas temporales). El segundo es modificar la resistencia al estrés (incrementando la tolerancia). El tercero es el resultado de un daño, es decir, se activan mecanismos de recuperación (como la reparación tisular y la respuesta al estrés celular) (Huey

et al., 2002). Con estos los organismos son capaces de adaptarse a los cambios que presenta el hábitat.

Uno de los organismos habitantes del intermareal rocoso es *Lottia gigantea*, el cual es un molusco (Gasteropodo: Patelogastropodo: Lottidae) perteneciente al grupo de las lapas; se le conoce como lapa búho y, sus sinonimias, son *Ancistromesus mexicanus* y *Patella máxima*. Habita desde la costa norte de Washington (EE.UU.) hasta la costa sur de la península de Baja California (México) (Abbott, 1980), siendo isla Cedros el límite austral de esta especie.

La gran capacidad de adhesión al sustrato que presentan las lapas, ha sido y es determinante en los procesos de selección y, por lo tanto, en la evolución de la forma de la concha y fuerza de su pie muscular dándoles la capacidad de resistir corrientes de agua con velocidades que pueden superar los 10 ms^{-1} . Lo anterior ha derivado en la formación de una concha semihidrodinámica y una gran capacidad de adhesión en las especies actuales (Denny *et al.*, 2000).

Estudios previos de la morfometría de la concha han demostrado que *Lottia gigantea* provenientes del norte y sur de la Isla Cedros, son significativamente diferentes empleando la prueba de T de Student (Arellano-Rodriguez *et al.*, 2013). Los organismos de Punta Norte presentan una mayor masa muscular con respecto a los organismos del sur de Cedros. De acuerdo con Denny *et al.*, (2000), lo anterior es probable a que estas características o rasgos morfométricos sean producto de un proceso de selección por el oleaje.

Uno de los aspectos que se derivan de lo anterior, es determinar si estas diferencias en la morfometría entre los organismos que habitan el norte y sur de la isla de Cedros, estén reflejados a nivel genético y, por lo tanto, en la estructura genética de las poblaciones. De acuerdo con lo anterior, en el presente trabajo se planteó caracterizar biológicamente a las poblaciones insulares de esta especie. Esta caracterización consistió en un análisis morfométrico y en la determinación de la variabilidad genética a través del análisis electroforético de 14 loci codificados por 6 sistemas enzimáticos en organismos provenientes de cuatro localidades de *Lottia gigantea* de la isla de Cedros.

2. ANTECEDENTES

2.1 Biología de *Lottia gigantea*

Lottia gigantea (Sowerby, 1834) pertenece al Orden Patellogasteropoda, Superfamilia Patellacea, Familia Lottidae, Genero *Lottia*, Especie *Lottia gigantea*. Estos moluscos pertenecientes a la Familia Lottidae se caracterizan por presentar una cabeza, una ventosa y una concha. La concha de *Lottia gigantea* tiene una estructura totalmente hidrodinámica. En la parte anterior de la concha, en su margen o borde superior se forma un ápice que utiliza para defender el territorio de otras lapas (Fig. 2) (Denny y Harley, 2006).

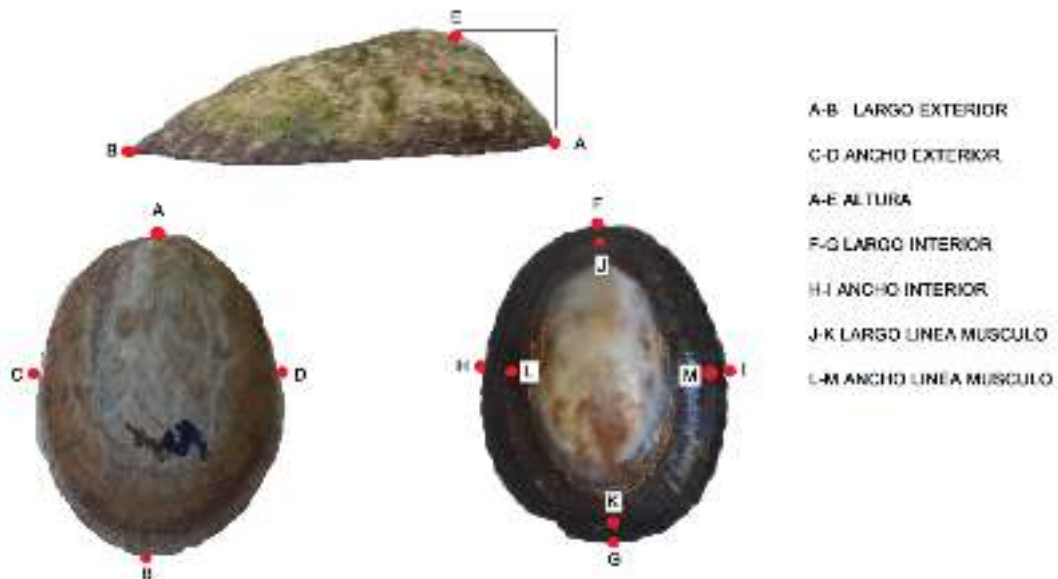


Figura 2 Características de la concha de *Lottia gigantea* indicando las estructuras consideradas para las medidas morfométricas. En su parte posterior se puede observar el ápice que utiliza como defensa del territorio con algas.

Estos moluscos gasterópodos se caracterizan por poseer una concha cónica, que difiere de una estructura completamente hidrodinámica (Denny *et al.*, 2000) típica en el estado adulto. La concha llega a medir más de 5 cm de diámetro, presentando una altura de 12 a 15 mm máximos y generalmente presenta una coloración marrón con manchas blancas con áreas desgastadas. Su pie es blanco con un sistema de enmalle palial que le permite adherirse a las rocas. Presenta una pequeña punta cerca del extremo anterior, que utiliza para defender el territorio de otras lapas (Denny *et al.*, 2000) (Fig. 2). Esta especie modifica el hábitat del intermareal rocoso debido a que sus conchas actúan como estructuras físicas adicionales al servir como sustrato para otros organismos (Mitchell, 2011).

Lottia gigantea es considerada como herbívoro ecológicamente importante alimentándose en áreas cubiertas de algas, siendo capaz de limpiar un área de 1,000 cm² durante toda su vida; desplazándose en distancias menores a 0.5 m al día (Schroeder *et al.*, 2011). *L. gigantea* presenta un comportamiento territorialista diferencial entre machos y hembras; compete por el espacio con el mejillón de California, *Mytilus californianus* (Wright y Lindberg, 1982), siendo el territorio habitado proporcional al tamaño de su concha. *L. gigantea* utiliza un área donde modifica el suministro de alimentos alterando la distribución de crecimiento del alga, estableciendo su territorio en dos semanas (Fenberg y Rivadeneira, 2011). *L. gigantea* se caracteriza por utilizar el mecanismo “empuja y persigue”, desalojando al intruso de su territorio (Plaganyi y Branch, 2000). Un comportamiento aparentemente no territorial se ha observado por parte de los machos de la especie,

que usualmente son los especímenes más pequeños que rondan en busca de comida (Mitchell, 2011). En contraste, los individuos de mayor tamaño, usualmente hembras, presentan un comportamiento marcadamente territorial regresando a los límites o márgenes de su territorio (Wright y Lindberg, 1982) (Fig. 3).



Figura 3. Huella que deja la lapa *Lottia gigantea* al momento de comer algas de su territorio comúnmente llamado “jardín”.

Las lapas de la familia Lottidae son predominantemente reproductores por difusión con fertilización externa, proceso que *Lottia gigantea* lleva a cabo una vez al año. *L. gigantea* se caracteriza por presentar hermafroditismo protándrico, que es un cambio secuencial de macho a hembra teniendo la capacidad de realizarlo durante una temporada de cría (Wright y Lindberg 1982). Comúnmente se utiliza la talla de las conchas para caracterizar el sexo, siendo los individuos con tallas más pequeñas machos y de tallas más grandes las hembras (Kido y Murray, 2003). En tallas medianas se ha logrado encontrar hermafroditismo simultáneo, que sucede esporádicamente en patélidos que no presentan dimorfismo sexual en talla (Dodd, 1956). Utilizar las tallas de las conchas no es la manera más precisa de determinar el sexo, lo recomendable es observar el tamaño de las gónadas (Wright y Lindberg 1982).

2.2 Estrés térmico en los organismos

Existe un gran interés por parte de los ecofisiólogos en entender los procesos de adaptación a nivel molecular, en las áreas de distribución natural de las especies (Huey *et al.*, 2002). Debido a que la supervivencia y rendimiento de las especies están correlacionados al medio ambiente físico, los organismos del intermareal pueden ser útiles como sensores biológicos o de monitoreo del cambio climático global (Miller, *et al.*, 2009).

La amplitud en la variación térmica que tolera una especie, por ejemplo la temperatura optima y la temperatura critica máxima, puede ser extendida hasta cierto límite. Estas variaciones afectan una gran cantidad de procesos fisiológicos y bioquímicos en los organismos y, por ende, inciden en la capacidad de sobrevivencia y adaptación por lo que afectan directamente en las amplitudes de distribución de las especies (Hochachka, 2002). Los conocimientos iniciales acerca de estas adaptaciones, provienen de estudios de especies que son ampliamente divergentes desde el punto de vista de la filogenética (Hochachka, 2002).

La respuesta al estrés celular es influida por mecanismos que promueven la tolerancia a los cambios climáticos, que en algunas temporadas pueden llegar a ser temperaturas extremas, siendo este uno de los principales factores de estrés en los organismos acuáticos (Dong y Somero, 2009; Kultz, 2003). Esto es debido a su penetrante efecto en los rasgos estructurales y funcionales de varios organismos, además de que se observan gradientes bruscos o discontinuos de temperatura en amplitudes geográficas que pueden ser de distancias grandes o pequeñas (Hochachka, 2002).

Evolutivamente, el efecto de la temperatura ha causado varias modificaciones a diferentes especies, entre ellas, sistemas fisiológicos que generalmente son de reparación y que, en algunos casos, poseen plasticidad fenotípica. Esta se define como los cambios en las características de los organismos en respuesta a una señal ambiental la cual influye en la ontogenia del organismo (Williams y Somero, 1996). El estrés térmico puede causar desnaturalización de

proteínas debido al aumento de la temperatura, creando altos costos energéticos en procesos como el reemplazo y reparación de las mismas proteínas. Otros estudios indican alteraciones en los transcriptomas de organismos sujetos al estrés ambiental, ocasionando una diferencia en su expresión genética y, con ello, cambios en la organización metabólica (Hochachka, 2002).

La naturaleza del estrés térmico y las respuestas de los organismos, son de una gran importancia en la interpretación de la fisiología y los patrones verticales de distribución, entre los gradientes del submareal e intermareal (Stillman y Somero, 1996). En un trabajo realizado de Arellano-Rodriguez *et al.*, (2013), reportaron diferencias morfométricas en distintas poblaciones de *Lottia gigantea* habitantes de Isla Cedros, mostrando un mayor tamaño en los individuos de Punta Norte (Fig. 4).



Figura 4. Representación de los diversos tamaños de los organismos de *Lottia gigantea* de las cuatro localidades provenientes de isla Cedros. En orden de arriba abajo se encuentra, Punta Norte, San Agustín, Punta Prieta y Punta Morro.

2.3 Variabilidad genética

La genética de poblaciones estudia los patrones y causas de la diversidad genética en las poblaciones (Tripp *et al.*, 2009). Existen varios métodos para estimar la variabilidad y la estructura genética. Una de las maneras es con la estimación de la variación génica a través de las proteínas, donde se evalúan la heterogeneidad de los productos de los genes en las poblaciones (Cid Becerra, 2002). En la mayoría de las especies, las proteínas pueden presentar polimorfismos que pueden servir como marcadores genéticos. Por ello, los análisis basados en los métodos con alozimas hacen evidente las diferencias químicas presentes en los organismos y ayudan en la identificación de poblaciones y especies (Licona-Chávez *et al.*, 2007). Existen variantes alélicas que son únicas en cada una de las especies. Estos son llamados loci diagnósticos. Además, con las alozimas se puede cuantificar el grado de herencia de los productos alozimicos (proteínas) codificados en los genes, que son influidos o afectados por el medio ambiente. No todas las alozimas son sensibles a estos factores ambientales ya que existen algunas que no son afectadas y son los llamados loci neutrales.

Los caracteres expresados en fenotipos no siempre son producto de adaptaciones de las poblaciones o de las especies, estas pueden ser por factores ambientales que no influyen en la supervivencia del organismo. Si esta variación produce adaptaciones, es considerado como una respuesta a los ambientes locales (Ayala, 1980). Por lo tanto, la variabilidad genética es probable que sea el producto de la reacción de las poblaciones, ante los cambios ambientales y puede promover

eventualmente una adaptación (Chiu, 1998). De esta forma se puede encontrar, si hay o no una relación entre las diferencias que se presentan en las frecuencias alélicas y las características morfológicas de los organismos. Estos posiblemente pueden ser afectados por factores bióticos o abióticos, los cuales determinando la extensión de la variación a lo largo de la distribución geográfica y/o en la estructuración genética de una población (Sa-pinto *et al.*, 2008) .

2.4 Descripción del área de estudio

La isla Cedros está localizada a 19 Km de la costa oeste del estado de Baja California; es la isla más larga que se encuentra en las costas del Pacífico Norte en México (Murphy *et al.*, 2002) (Fig. 5). Isla de Cedros se integra a la Reserva de la Biosfera de Vizcaíno, la cual está formada por sedimentos volcánicos del Jurásico (Chapman *et al.*, 1999). Este cuerpo insular posee gran importancia desde el punto de vista biogeográfico y evolutivo debido a que en esa región convergen los límites de tres provincias biogeográficas: la Provincia Californiana, la Mexicana y la Cortesiana (Cavole *et al.*, 2016); en esta región confluyen los límites de distribución geográfica de un gran número de especies (Fig. 5). Una de las ventajas de trabajar en esta isla es que las actividades económicas desarrolladas en la Isla aparentemente no amenazan la vida silvestre (Chapman *et al.*, 1999). Es de los pocos lugares en el mundo donde el aprovechamiento de los recursos marinos no ha ocasionado colapsos ecológicos (García-Aguilar y Gallo-Reynoso, 2012).



Figura 5. Punto de encuentro de zona biogeográficas. En el círculo verde se encuentra isla Cedros, presente en la zona de encuentro de las provincias biogeografías. La flecha de color azul representa la Corriente de California y la flecha roja representa Corriente Costera de Costa Rica.

En esta zona de transición biogeográfica convergen masas de agua de distinto origen por lo que, puede presentar temperaturas superficiales oceánicas significativamente diferentes en la región norte y la región sur de la isla. El estrés térmico es considerado el principal factor que incide en la distribución vertical y latitudinal de los organismos en las zonas rocosas del intermareal (Stillman y Somero, 1996; Helmuth y Hofmann, 2001; Lockwood y Somero, 2012). De acuerdo con lo anterior, Punta Norte está influida por la corriente de California con aguas templado-cálidas (NOAA CoastWatch, 2012), mientras en las localidades de San Agustín, Punta Prieta y Punta Morro, todas ellas en la región sur de la isla, se encuentran influidas por la corriente Costera de Costa Rica de aguas tropicales y subtropicales (NOAA CoastWatch, 2012). En ambas corrientes existe una variación

de hasta 15°C en la misma época del año (NOAA CoastWatch, 2012). En este aspecto una variación en la temperatura corporal de 5 a 7°C por encima del promedio anual, ha sido considerada como el límite letal, en el cual las especies responden con una variación al estímulo térmico (Denny *et al.*, 2011).

2.5 Distribución geográfica de *Lottia gigantea*

Con base en la literatura científica especializada y a los datos de referencia geográfica de los museos, la distribución de *Lottia gigantea* (Fenberg y Rivadeneira, 2011), se encuentra comprendida entre los 41.74 °N como límite norte (Crescent City California) y a 26.23°N como límite sur (Bahía tortugas Baja California Sur) (Landers, 2014). Esta amplitud geográfica se ha reducido en su límite norte por 2.4° desde 1889 a 1963, aproximadamente 3.24 km por año (Fenberg y Rivadeneira, 2011) (Fig. 6).



Figura 6. Distribución actual de la lapa *Lottia gigantea* en el Pacífico Nororiental. Como extremo norte Crescent city y como extremo sur Bahía Tortuga

El modelo de distribución que *Lottia gigantea* presenta, se ajusta al modelo de la Hipótesis de Abundancia Central, donde se observa que en la parte central las poblaciones presentan una mayor abundancia debido a que se encuentran en condiciones óptimas y las poblaciones marginales presentan menores densidades (Guo *et al.*, 2005). Recientemente se ha observado en un estudio de *Lottia gigantea* realizado con microsátélites en las costas de California E.E.U.U., por Fenberg *et al.*, (2010) que los organismos obtenidos en diferentes localidades son pertenecientes a una misma población, debido posiblemente a una alta tasa de migración, producto de una posible asociación del ciclo de reproducción con el flujo de corrientes superficiales de norte a sur.

Una de los principales factores que afectan la distribución y abundancia es la captura por parte del hombre debido al interés comercial (Fenberg y Rivadeneira, 2011). Un ejemplo de ello es *Lottia gigantea* que, por la recolecta de las tallas más grandes durante más de 100 años, los ejemplares de mayor tamaño se han reducido en muchas zonas de California (Erlandson *et al.*, 2011). Debido a la disminución por la reducción de tamaño y por lo tanto, la densidad de las subpoblaciones se podría ocasionar un aumento en la deriva genética y la pérdida de variación genética (Allendorf *et al.*, 2008; Fenberg *et al.*, 2010).

La recolección de especies para consumo humano es uno de los impactos más grandes que se causa a un ecosistema y, junto a la sobreexplotación, se ha ocasionado la extinción de varias especies (Fenberg *et al.*, 2010). Esto puede causar efectos biológicos como la disminución de las tallas en los organismos de las poblaciones recolectadas, además de disminuir la interacción entre poblaciones por la poca migración (Fenberg *et al.*, 2010).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

En la presente investigación se planteó el siguiente objetivo:

- Llevar a cabo una caracterización morfométrica y genética de *Lottia gigantea* proveniente de cuatro localidades de la isla de Cedros.

3.2 Objetivos Particulares

- Desde el punto de vista de la fenética, llevar a cabo una caracterización morfométrica de los organismos de *Lottia gigantea* provenientes de cuatro localidades de la isla de Cedros.
- Desde el punto de vista de la genética poblacional, determinar si existe y, a qué grado, la estructuración poblacional de *Lottia gigantea* de la isla de Cedros por medio del análisis electroforético de 14 loci.
- Determinar el grado de “sensibilidad térmica/ambiental” de aquellos loci cuya variación alélica y genotípica se asocie a las temperaturas superficiales de las corrientes oceánicas de la isla de Cedros.
- Determinar si existe un flujo de genes entre y dentro de las poblaciones insulares de *L. gigantea*.

4. MATERIALES Y METODOS

El presente estudio consistió de dos etapas (Fig. 7): 1) trabajo de campo (recolecta de los ejemplares de *L. gigantea*) y 2) trabajo de laboratorio (morfométrico y genético). Para llevar a cabo el análisis morfométrico y genético, se realizó la recolecta de organismos presentes en cuatro localidades de la Isla de Cedros: Punta Norte (PN), Punta Morro (PM), Punta Prieta (PP) y San Agustín (SA) (Fig. 6).

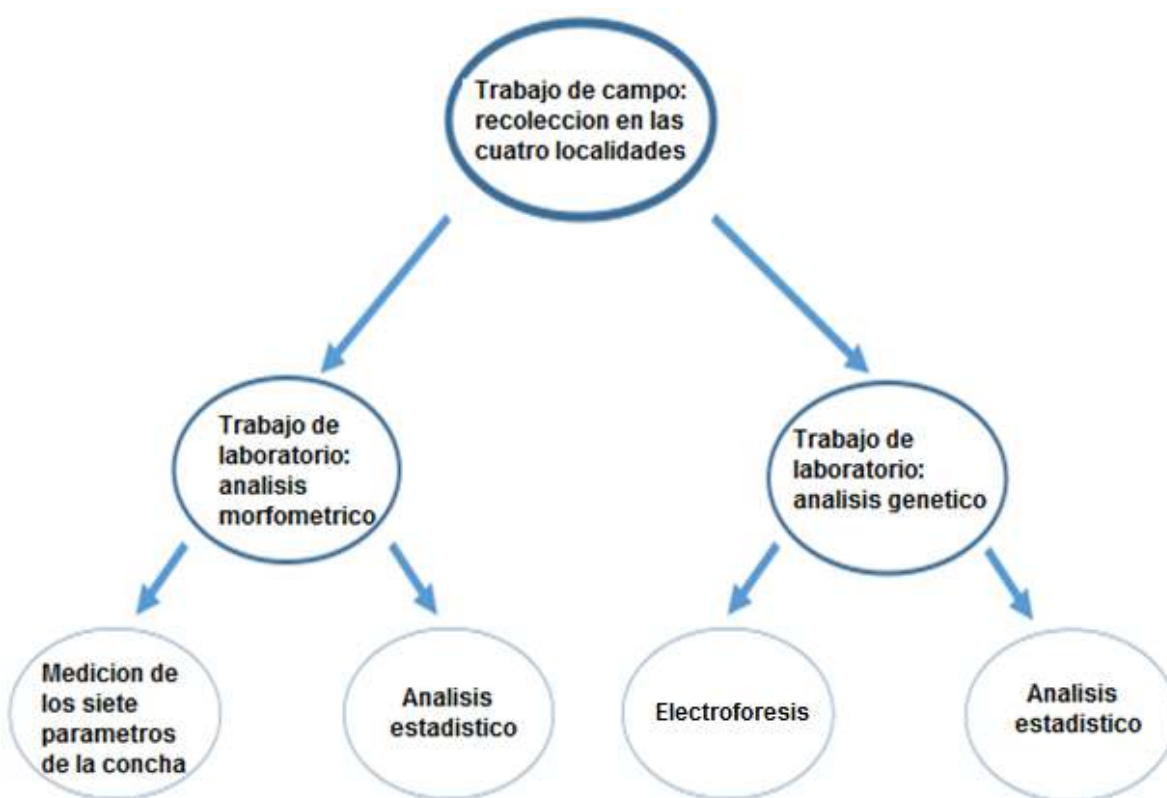


Figura 7. Diagrama de flujo de las etapas desarrolladas en la presente investigación.

4.1 Análisis morfométrico

4.1.1 Obtención de los datos morfométricos

De 16 a 50 organismos se recolectaron de cada localidad procedente del intermareal rocoso de la isla de Cedros, Baja California, México. La recolecta se realizó manualmente, en cuatro puntos de la isla: Punta Norte (PN 28 21' 46" N; 115' 11' 47" W), San Agustín (SA 28 04' 48" N; 115' 20' 25" W), Punta Prieta (PP 28 02' 3" N; 115 13' 06" W) y Punta Morro (PM 28 01' 49" N; 115 11' 15" W) (Fig. 8). Para llevar a cabo la recolección, se utilizó xilocaína para anestesiarse y desprender al organismo de la roca y así obtener al individuo completo e intacto. Los ejemplares vivos de *L. gigantea*, se colocaron en una solución saturada de NaCl en una bolsa ziplock debidamente etiquetada y a su vez, las bolsas con los organismos se depositaron en un contenedor con una mezcla de hielo, NaCl y alcohol etílico para mantener la temperatura por debajo de los -15 °C hasta su transporte al laboratorio de Genética de Poblaciones y Biología Molecular del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO), de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Una vez en el laboratorio se mantuvieron a -80 °C en un ultracongelador hasta su disección, homogenización y la extracción de proteínas.

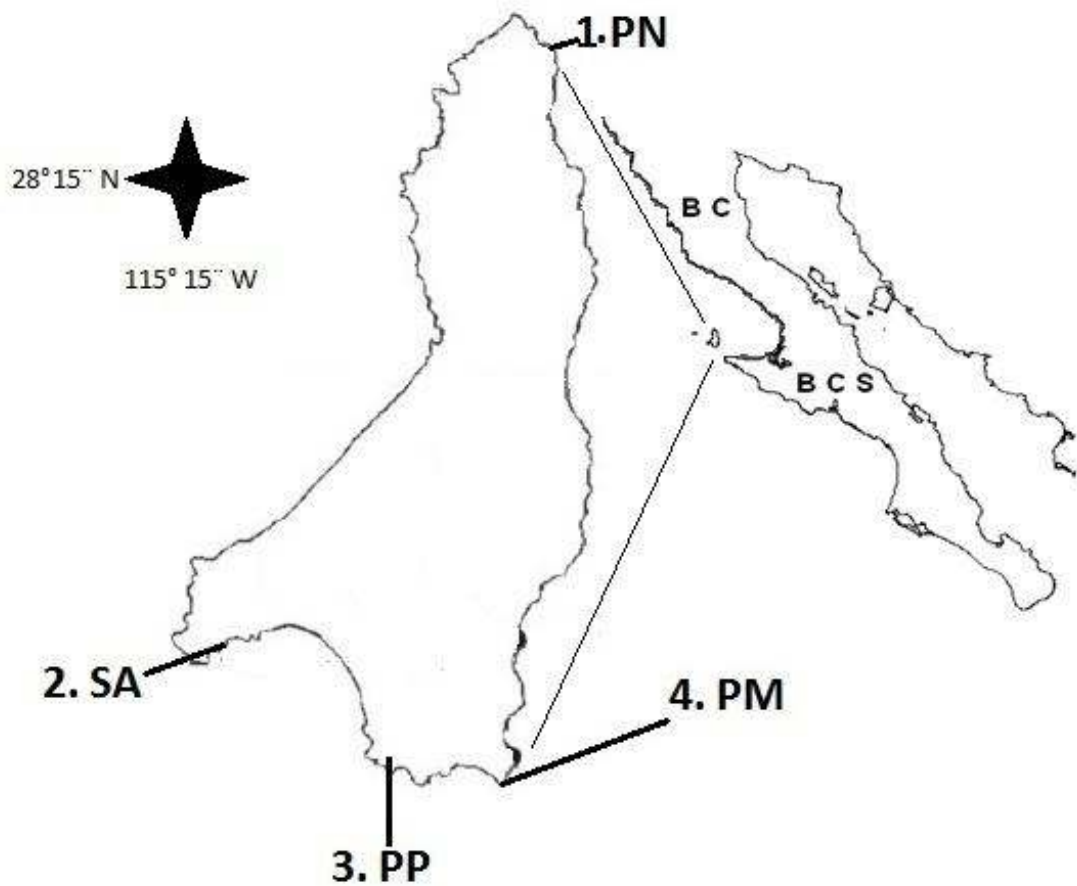


Figura 8. Distribución de los organismos estudiados presentes en las cuatro localidades de isla Cedros. PN: Punta Norte, SA: San Agustín, PP: Punta Prieta y PM: Punta Morro.

4.1.2 Análisis morfométrico preliminar

Una vez separado el tejido de la concha, se realizó el análisis morfométrico. En un estudio previo acerca de la morfometría de *Lottia gigantea* en isla de Cedros, se adoptó el criterio de Roopnarine (2009) que consiste en la obtención del mayor número de caracteres/parámetros medibles en los organismos, en este caso 7. Los

parámetros utilizados para el análisis en *L. gigantea* fueron: largo exterior (A-B), ancho exterior (C-D), altura (A-E), largo interior (F-G), ancho interior (H-I), largo de línea muscular (J-K) y ancho de línea muscular (L-M) (Fig. 2). De las medidas obtenidas (datos sin transformar) se realizó la consecución de razones el cual consiste en la división de cada uno de los siete parámetros entre los siguientes caracteres: altura, largo interior y largo exterior, utilizando el largo interior como razón final. Lo anterior se hizo con el fin de hacer más evidente las diferencias entre poblaciones. Una vez generados los datos, se analizó la normalidad y su homocedasticidad.

Para realizar el análisis de los parámetros morfológicos de las conchas de los organismos (Fig. 9) de las cuatro localidades de isla Cedros, se realizó primeramente la estandarización de los valores obtenidos mediante el cálculo de los valores Z:

$$Z = \frac{x - \bar{x}}{s}$$

Los valores dados por la estandarización (valores Z) son la distancia en la que se encuentran los valores originales con respecto a la media. Su cálculo se realizó mediante la resta de la media aritmética y se divide entre la desviación estándar.

Se obtuvo para cada una de las poblaciones una tabla de correlaciones con base al valor estandarizado crudo y las razones largo interior y altura. Lo anterior

fue para obtener el Análisis de Funciones Empíricas Ortogonales (FEOs) y generar un organismo representativo de cada población con las medidas de los 7 parámetros morfométricos. Una vez obtenidos los valores de análisis FEOs, se procedió a realizar el Análisis de Componentes Principales (ACP) (Cid Becerra, 2002; Santamaria-del-Angel *et al.*, 2008).

4.1.3 Análisis de Componentes Principales (ACP)

De acuerdo con Santamaria *et al.*, (2008), el Análisis de Componentes Principales (ACP) es una de las herramientas más empleada en la actualidad. A grandes rasgos, el ACP es la versión para datos cuantitativos de un Análisis Factorial. Las bases teóricas del ACP se propusieron por primera vez por Kendal en 1930. Su uso y desarrollo fue retrasado hasta la aparición del FORTRAN, también recibe el nombre de Análisis Factorial Ortogonal (AFO), Análisis Ortogonal (AO), Método de Componentes Principales (MCP), Método de Ejes Principales (MEP), Método de Sumas Pesadas (MSP) (o ponderadas) o Método de Hotelling.

El objetivo principal del ACP radica en reducir un enjambre de datos del conjunto de las variables (multidimensional) a un número menor, (denominas componentes), para encontrar los patrones intrínsecos que el enjambre pueda poseer. Básicamente, existen dos maneras de enfocar el ACP, la primera es un enfoque geométrico y la segunda es un enfoque numérico, siendo el primer enfoque el más popular y consiste en la rotación de los ejes de la gráfica tratando de que el ángulo

sea de tal magnitud que proporcione una variación grande en el eje de las Y rotado y una pequeña en el eje X rotado. Matemáticamente es posible calcular el ángulo de rotación; sin embargo, el enfoque geométrico puede presentar serios problemas al decidir cuál variable se encuentra en cada componente. Debido a que es un enfoque gráfico en el que se proyecta una nube de puntos, la pregunta es ¿qué tan separado debe de estar un punto para ser o no ser considerado dentro de la agrupación? Este problema no se presenta en el enfoque numérico pues las reglas para decidir si una variable pertenece a un componente son inflexibles. A continuación, se desarrolla el enfoque numérico como mejor aproximación del ACP.

Según lo descrito por Santamaria (1994) se define cada componente como la mejor combinación lineal de un conjunto de variables. En otras palabras, cada componente puede ser descrito matemáticamente por una ecuación polinomial de primer orden.

Un caso hipotético con j variables y cada una con n_i observaciones, las cuales pueden ser tabuladas en la siguiente matriz M:

A	B	C	D		J
n1A	n1B	n1C	n1D		n1j
n2A	n2B	n2C	n2D		n2j
n3A	n3B	n3C	n3D		n3j
n4A	n4B	n4C	n4D		n4j
.	.	.	.		.
.	.	.	.		.
NIA	nIB	nIC	nID		nIj

Con esta matriz se puede elaborar una Matriz de Correlación (Spearman) o de covarianza, la cual es cuadrática y simétrica, donde $r_{A, J}$ es el coeficiente de correlación (o co-varianza) de la variable A vs, la variable J y es igual a r_{JA} :

	A	B	C		J
A	1	r_{AB}	r_{AC}		r_{AJ}
B	r_{BA}	1	r_{BC}		r_{BJ}
C	r_{CA}	r_{CB}	1		r_{CJ}
.	.	.	.		.
.	.	.	.		.
J	r_{JA}	r_{JB}	r_{JC}		1

Por algebra matricial esta matriz cuadrática se puede calcular los eigenvalores (valores propios) y los eigenvectores (vectores propios). Los eigenvalores son los valores críticos para determinar si el componente es o no diferente estadísticamente. En base a la regla de decisión de que todos aquellos componentes con eigenvalores menores a 1,0 no son significativos.

Si se retoma la idea de que un componente puede ser expresado por una ecuación polinomial de primer orden, se puede definir a los eigenvectores como los coeficientes de dicha ecuación, es decir, los componentes principales un (PC1) y dos (PC2); estos pueden estar descritos por:

$$\begin{aligned} (1) \text{ PC1} &= b_{1a} \cdot A + b_{1b} \cdot B + b_{1c} \cdot C + b_{1d} \cdot D + \dots + b_{1j} \cdot J \\ (2) \text{ PC1} &= b_{2a} \cdot A + b_{2b} \cdot B + b_{2c} \cdot C + b_{2d} \cdot D + \dots + b_{2j} \cdot J \end{aligned}$$

Donde el conjunto b_1 constituye el eigenvector uno y el b_2 el dos.

Así el desarrollar todos y cada uno de los polinomios se puede obtener un número igual de componentes que el número inicial de variables (j), teniendo cada uno de ellos igual número de observaciones que las variables originales. Como ya se mencionó al reducir el número de componentes en base al eigenvector, lo único que cabría agregar es que cada una explica cierto porcentaje de la varianza de los datos y el porcentaje explicado por los componentes con los eigenvalores menores a 1.0

El siguiente paso en el ACP es el de decidir que variables varían o co- varían juntas o en otras palabras, que variables se asocian dentro de un componente. En base al coeficiente de correlación de las variables vs los PC se puede definir si cada variable pertenece al componente, al presentar el mayor coeficiente de correlación (en valor absoluto) de la primera con el segundo. Por ejemplo, supóngase que se obtuvo los siguientes coeficientes de correlación:

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
A	-0.25	0.12	-0.16	-0.15	0.33
B	-0.36	0.18	-0.18	-0.21	0.26
C	-0.30	0.11	-0.26	0.07	-0.27
D	0.01	-0.26	-0.23	0.02	-0.08
E	-0.05	-0.29	0.18	0.16	-0.28
F	-0.18	0.00	0.11	0.26	0.10
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
J	0.25	0.00	0.24	-0.04	0.18

La interpretación es: las variables B, C y J se asocian en el primer componente, teniendo B y C una variación directa y ambas son inversas con respecto a J; D y E

se asocian directamente en el PC2 y las variables F y A no se asocian a ninguna variable al encontrarse solas en los PC4 y PC5, respectivamente.

4.1.4 Análisis de Funciones Empíricas Ortogonales

Con objeto de caracterizar la riqueza morfométrica de las poblaciones de *L. gigantea*, se construyeron Funciones Empíricas Ortogonales (FEO). Las FEO, se calcularon mediante el Análisis de Componentes Principales (ACP) y su función, fue recrear los prototipos morfométricos de las poblaciones, así como, permitir que se efectuaran comparaciones intra e intraspecíficos (Santamaria-del-Angel et al., 2008).

Debido a que el componente I del ACP de cada población, es la mejor combinación lineal de los siete caracteres morfométricos analizados, este expresa la mayor proporción de la varianza del modelo y se caracteriza por ser ortogonal con respecto al resto de componentes significativos generados, se le seleccionó como la FEO o prototipo de cada población.

Para llevar a cabo lo anterior, se construyeron cuatro matrices, una por cada población examinada, donde en los renglones, se ubicaron los individuos y en las columnas, los caracteres morfométricos. Con objeto de obtener un máximo contraste de los individuos, en el ACP, se aplicó una rotación VARIMAX a las matrices. De esta forma y producto de la solución del polinomio del componente I, los prototipos se constituyeron de vectores de siete renglones.

Obtenidos las FEO o prototipos de cada población y con objeto de compararles entre sí, se les aplicó un Análisis de Discriminantes, basado en el ACP. Para efecto de observar en el ACP un máximo de contraste entre los prototipos, se aplicó una rotación VARIMAX. Para efectuar el cálculo, las FEO de las poblaciones se organizaron en una matriz compuesta de los vectores de siete renglones de cada población, a ésta se le aplicó la rotación VARIMAX y a la resultante, el ACP.

La aproximación geométrica del ACP o Diagrama en Espacio Reducido compuesto por los componentes I y II, permitió caracterizar morfométricamente a los prototipos de las localidades de *L. gigantea*.

Para realizar este análisis, se calculó la FEO o prototipo de *L. nodosus*, después de lo cual, fue incluido en la matriz donde ya estaban presentes los de las poblaciones de *N. subnodosus* y de *N. arthriticus*. En el análisis de discriminantes, basado en el ACP, se empleó la rotación VARIMAX con objeto de observar, en la aproximación geométrica del ACP, un máximo contraste de los prototipos, en el espacio reducido formado por los componentes I y II. (Cid Becerra, 2002).

Las FEO son empleadas en diversos estudios como en investigaciones en Oceanografía y Biología para realizar prototipos, un ejemplo claro es el de tipificar masas de agua que integran un cierto número de factores físicos, el de realizar caracterizaciones morfométricas entre distintas especies (Cid Becerra, 2002), caracterizar zonas de productividad primaria aplicado en distintas concentraciones de clorofila (Valdez-Holguín, 2007), y en la determinación de dinamismo biogeográfico (Santamaria-del-Angel *et al.*, 2008).

En este trabajo los prototipos realizados para cada población se integraban los siete parámetros morfométricos, de los cuales el componente PCI y PC2 cumplían con las características de significancia.

4.2 Análisis genético

4.2.1 Electroforesis de alozimas

4.2.2.1 Extracción de Proteínas Solubles

Las bolsas con las muestras se descongelaron en forma gradual para posteriormente ser disectados; el tejido muscular y los órganos fueron transferidos a un tubo de 100 ml. Para romper el tejido y liberar las enzimas, se utilizó un homogenizador de tejidos “Tissue Terator” de velocidad variable, empleando un amortiguador de Tris-HCl 0.1 M pH 7.8, con fenil-metil-sulfonilcloruro (6 mg/100 ml), para inhibir a las proteasas; la relación tejido-buffer fue de 1:1 y el proceso se realizó en un recipiente con hielo con el fin de disminuir la temperatura, buscando evitar la desnaturalización de las proteínas por el calor generado en el proceso. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 10,000 rpm (59,988G) a 2 °C por 20 minutos. Una vez centrifugadas, se extrajeron los sobrenadantes con las proteínas concentradas y se depositaron en criotubos a -80 °C en un ultracongelador REVCOR hasta su análisis electroforético.

4.2.3 Análisis electroforéticos

En la estandarización se obtuvieron seis sistemas enzimáticos los cuales revelaron 14 loci (Tabla I) que resolvieron satisfactoriamente para todas las localidades en los geles de poliacrilamida. A continuación, se describe el procedimiento de preparación de los geles para la electroforesis, así como los sistemas enzimáticos ensayados.

4.2.4 Electroforesis en Geles de BIS-poliacrilamida

Se emplearon geles continuos de bis-acrilamida (30% T y 2.67% C), previamente preparados. Cada gel puede contener 16 pozos en los que se colocaron individualmente las muestras, cada una en 5 µl del extracto centrifugado de *Lottia gigantea* con 2 µl de buffer de carga (azul de bromofenol 1%, glicerol y 0.5 M Tris-HCl). Las muestras de los organismos de cada una de las poblaciones fueron intercaladas para evitar errores al momento de leer los zimogramas (Anexo 1). El colorante de azul de bromofenol fue empleado como indicador de la migración de las enzimas. La electroforesis se llevó a cabo en cámaras verticales manteniendo una temperatura menor a 4 °C durante los ensayos en refrigeradores de cromatografía. Las condiciones eléctricas y duración de los ensayos electroforéticos estuvieron en función del sistema enzimático (Tabla I).

Tabla I Condiciones eléctricas y numero de loci resueltos por medio del análisis electroforético en geles de acrilamida en proteínas de organismos provenientes de 4 localidades de isla Cedros.

Enzima	No. G.L.	Alimentación	Elevación sustrato	Loci resueltos	Condiciones				
					Temp	V	mA	h	Resolución
1. Hexoglucosaasa	1.3.3.1	MSM	Glucosa	2	1	120	80	15	50 min
					2	120	80	15	20 min
2. Adenosin desaminasa	1.1.1.37	MSM	Adenosin	2	1	120	80	15	30 min
					2	120	80	15	40 min
3. Papain	3.4.11.12	MSM	Citrona	3	1	120	80	15	30 min
					2	120	80	15	40 min
4. Glucosa fosfatidasa	3.1.3.1	MSM	Citrona	1	1	120	80	15	30 min
					2	120	80	15	40 min
5. Inositol fosfatidasa	3.1.3.1	MSM	Citrona	1	1	120	80	15	30 min
					2	120	80	15	40 min
6. Triacinaasa	3.1.1.1	MSM	Adenosin	2	1	120	80	15	30 min
					2	120	80	15	40 min

4.2.4.1 Tinción e Interpretación de los zimogramas

Las soluciones de los sustratos específicos se prepararon de acuerdo con los protocolos estándar establecidos (Harris y Hopkinson, 1976) (Anexo 2). Cada gel se colocó en 45 ml de solución sustrato y fue incubada a 37 °C en obscuridad hasta observarse las bandas esperadas. Después de que aparecieron los electrómorfos (bandas formadas por la actividad enzimática) fueron digitalizados con una cámara fotográfica con una resolución de 1920 x 2560; los geles fueron posteriormente fijados en una solución de metanol, ácido acético y agua destilada (3:1:6). Los sistemas enzimáticos que se ensayaron fueron elegidos al azar con respecto a su función metabólica, siendo la única restricción contar con los reactivos específicos y de la calidad en la resolución de los zimogramas. La variación entre los genotipos de un mismo locus, se registró al considerar homocigotos: a aquellos individuos que presentan una sola banda; y heterocigotos: a aquellos individuos que, dependiendo

de la estructura cuaternaria de la enzima, presentan varias bandas: dos bandas (monoméricas), o tres bandas (diméricas), y así sucesivamente (Fig. 9).

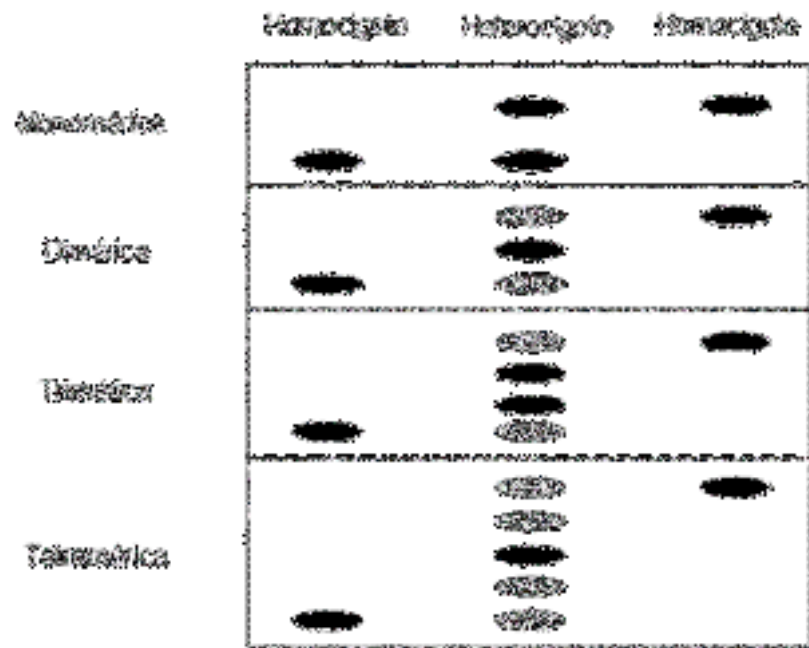


Figura 9. Ejemplo de las variaciones alozimicas en las proteínas según su estructura cuaternaria.

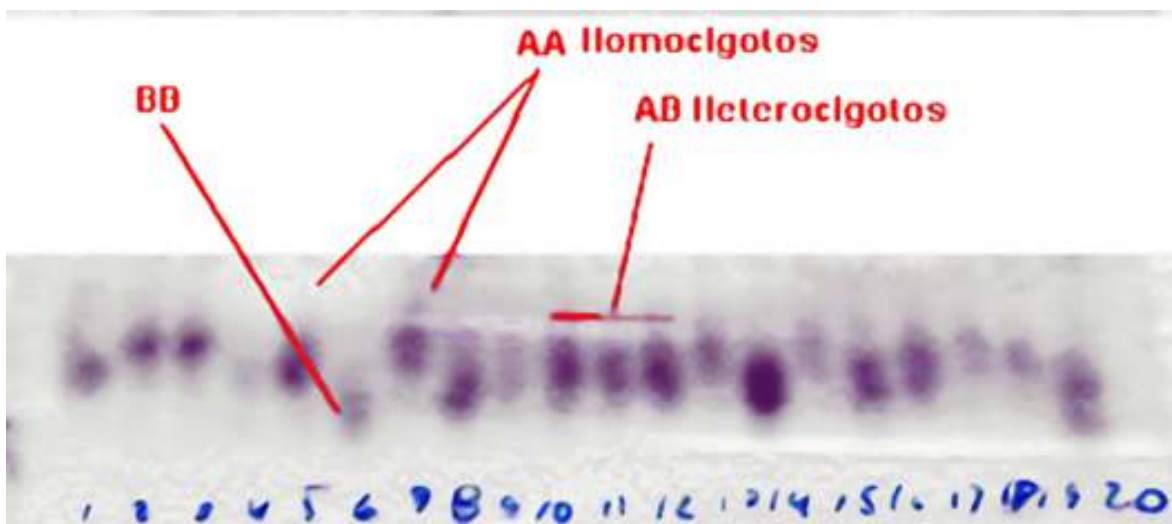


Figura 10. Foto de un gel producto de la electroforesis para el sistema enzimático PGI.

Una vez que se fijaron los geles, se llevó el registro grafico de las bandas para la determinación del genotipo de las muestras. Las bandas de las alozimas se revelan de acuerdo al sustrato específico en el cual se incuban. Estas bandas pueden ser de color azul o marrón y la nitidez de éstas es controlada por las condiciones eléctricas y el peso atómico (Cossu *et al.*, 2015; Cretella *et al.*, 1994; Fenberg *et al.*, 2010; Hilbish, Carson *et al.*, 2002). El registro se realizó mediante una revisión visual de los geles sobre una lámpara de luz blanca así como también proyectando la imagen del zimograma sobre un pizarrón; se anotó la cantidad y posición de los electromorfos presentes sobre formatos preestablecidos (Anexo 3).

Los sistemas enzimáticos con actividad en más de un locus (proteínas con actividades similares codificadas por distintos genes) se designaron enumerándolos en orden ascendente. Para distinguir las alozimas de un mismo locus se designó

como A al alelo con mayor movilidad catódica, B al segundo más móvil y así sucesivamente.

4.2.5 Análisis de datos genéticos

Los datos que se obtuvieron se procesaron con el paquete BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981) para obtener los siguientes estimadores genéticos: las frecuencias alélicas y genotípicas, el porcentaje de loci polimórficos, la heterocigocis (H), la heterocigocis esperada (He) (Nei, 1978), la heterocigocis observada (Ho), la deficiencia o exceso de heterocigotos (D), así como la identidad genética de Nei (I) (Nei y Masatoshi, 1978). Con el paquete GENEPOP ver 4.0 (Rousset, 2015) se evaluó el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (prueba exacta). El grado de heterocigocidad se comparó entre las poblaciones, mediante la prueba de Wilcoxon, utilizando la corrección de Bonferroni. Adicionalmente se calculó el número efectivo de alelos mediante la fórmula

$$n_e = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

donde p es la frecuencia del iésimo alelo en la población (Hartl y Clark, 2007).

Con el programa FSTAT v2.8 (Goudet, 2016) se calcularon los estadísticos F de Wright (ver anexo 4): **Fis** es el coeficiente de endogamia individual en relación a la subpoblación; **Fit**, que es el coeficiente global de un individuo en relación a la

población total; y **Fst**, que determina el grado de diferenciación genética entre las poblaciones; además se obtuvo el Fst por pares de poblaciones para determinar la existencia del flujo de genes y su dirección. Estos estadísticos F se calcularon para todos los loci polimórficos, de acuerdo al Método de Weir y Cockerham (1984), además de la varianza (Jackknife) y los intervalos de confianza al 95% (bootstrap). En cada caso, al nivel de significancia se le aplicaron la corrección de Bonferroni usando el método de Dunn-Šidák's:

$$\alpha'' = \frac{(1 - (1 - 0.05)^k)}{k}$$

donde k = es el número de pruebas (Sokal RR, 1995).

Para comprobar la independencia entre las poblaciones de *Lottia gigantea* y su composición génica, se utilizó el método en Cadena de Markov con el programa Genepop 3.3 (ver anexo 5) (Raymond, 1995). La hipótesis nula fue la independencia en la variación alélica de los loci polimórficos a nivel interpoblacional, donde un valor de $\alpha \leq 0.05$ indica el rechazo de la hipótesis nula.

5 RESULTADOS

5.1 Análisis morfométrico

5.1.1 Características merísticas

Con el fin de ilustrar las diferencias morfométricas entre las poblaciones, en la Tabla II se muestran los valores promedio de los siete parámetros merísticos.

Tabla II Valores promedio de los siete parámetros de las conchas de la lapa *Lottia gigantea* provenientes de cuatro localidades en isla Cedros (*n*= número de organismos recolectados para cada localidad; PN= Punta Norte, SA= San Agustín, PP= Punta Prieta, PM= Punta Morro; entre paréntesis () se indica la desviación estándar).

Población	PN	SA	PP	PM
Parámetro merístico	n= 16	n=36	n=27	n=51
AB	61.51	48.33	43.40	45.82
Largo exterior	(7.69)	(8.53)	(8.02)	(8.83)
CD	48.52	36.27	32.26	34.47
Ancho exterior	(6.92)	(7.10)	(6.44)	(7.11)
AE	19.49	14.95	13.16	13.75
Altura	(3.68)	(3.00)	(2.89)	(3.34)
FG	55.5	43.39	38.30	41.83
Largo interior	(7.16)	(7.69)	(7.15)	(8.04)
HI	41.56	31.19	27.16	30.21
Ancho interior	(6.07)	(6.59)	(5.91)	(6.71)
JK	45.39	35.90	31.86	31.80
Largo línea muscular	(6.11)	(6.80)	(6.24)	(6.63)
LM	26.83	21.00	18.55	20.67
Ancho línea muscular	(3.79)	(4.45)	(3.98)	(4.55)

5.1.2 Análisis de Componentes Principales

En la Tabla II se muestran los resultados del Análisis de Componentes Principales con los datos no transformados. Se observa que el componente 1 explica el 95% de los parámetros morfométricos con varianza de 3.7. De las cuatro poblaciones la única que presenta un valor negativo en dicho componente es San Agustín. Los valores de Punta Norte, Punta Prieta y Punta Morro (Tabla II) presentan valores similares y al ser positivos indican una correlación positiva entre estas localidades.

Tabla III. Los valores del Análisis de Componentes Principales con valores sin transformar para los siete parámetros morfométricos de la concha de la lapa *Lottia gigantea* provenientes de cuatro localidades en isla Cedros.

Variable	Componente 1	Componente 2
Punta Norte	0.96	0.23
San Agustín	-0.99	0.11
Punta Prieta	0.97	0.16
Punta Morro	0.96	-0.28
Varianza	3.78	0.17
%Var	0.95	0.04

El análisis de componentes principales también generó una distribución de las localidades partiendo de un eje central (Fig. 11) y de acuerdo a la amplitud de los ángulos se puede observar la semejanza morfométrica que comparten las localidades de Punta Norte y Punta Prieta. Entre mayor es el ángulo presentado en

dos localidades, mayor es la diferencia presentada en sus parámetros morfométricos.

De acuerdo a la figura 11 se observa que las poblaciones de PN y PP están agrupadas con valores positivos en los componente 1 y 2. En el caso de SA presenta valor negativo para el componente 1 y positivo para el componente 2 y en forma opuesta PM con valor positivo en el componente 1 y negativo en el 2.

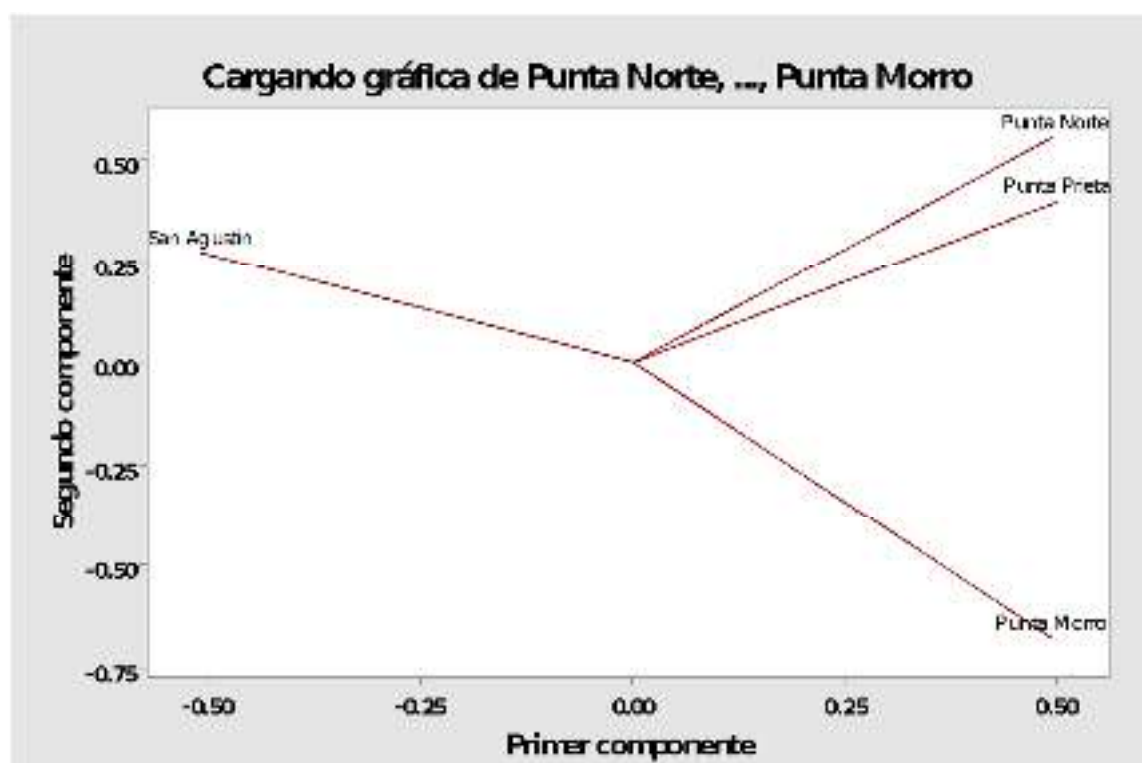


Figura 11. Distribución de las localidades de acuerdo al ACP, según sus similitudes en los siete parámetros: altura, largo exterior, ancho exterior, largo interior, ancho interior, largo de la línea muscular y ancho línea muscular (datos sin transformar) de la concha de la lapa *L. gigantea* de isla Cedros.

En contraparte, en la tabla III se muestran los resultados del ACP con los datos transformados, es decir, con las razones de largo interior y altura. El componente 1 representa el 63% de los parámetros medidos, donde se puede observar que Punta Morro presenta un valor negativo, por lo cual no tiene una correlación con el resto de las localidades.

Tabla IV Los valores del Análisis de Componentes Principales con razones para los siete parámetros morfométricos de la concha de la lapa *Lottia gigantea* provenientes de cuatro localidades en isla Cedros.

Variable	Componente 1	Componente 2
Punta Norte	0.884	-0.17
San Agustín	0.747	0.36
Punta Prieta	0.659	-0.672
Punta Morro	-0.84	-0.415
Varianza	2.287	0.781
%Var	0.632	0.141

En la distribución de las localidades realizado por el ACP (Fig. 12) se puede observar que PN y PP están agrupadas con valores positivos en el componente 1 y ambos con valores positivos en el componente 2. SA presenta valores positivos para el componente 1 y 2 y, en forma opuesta PM presenta valores negativos en ambos componentes.

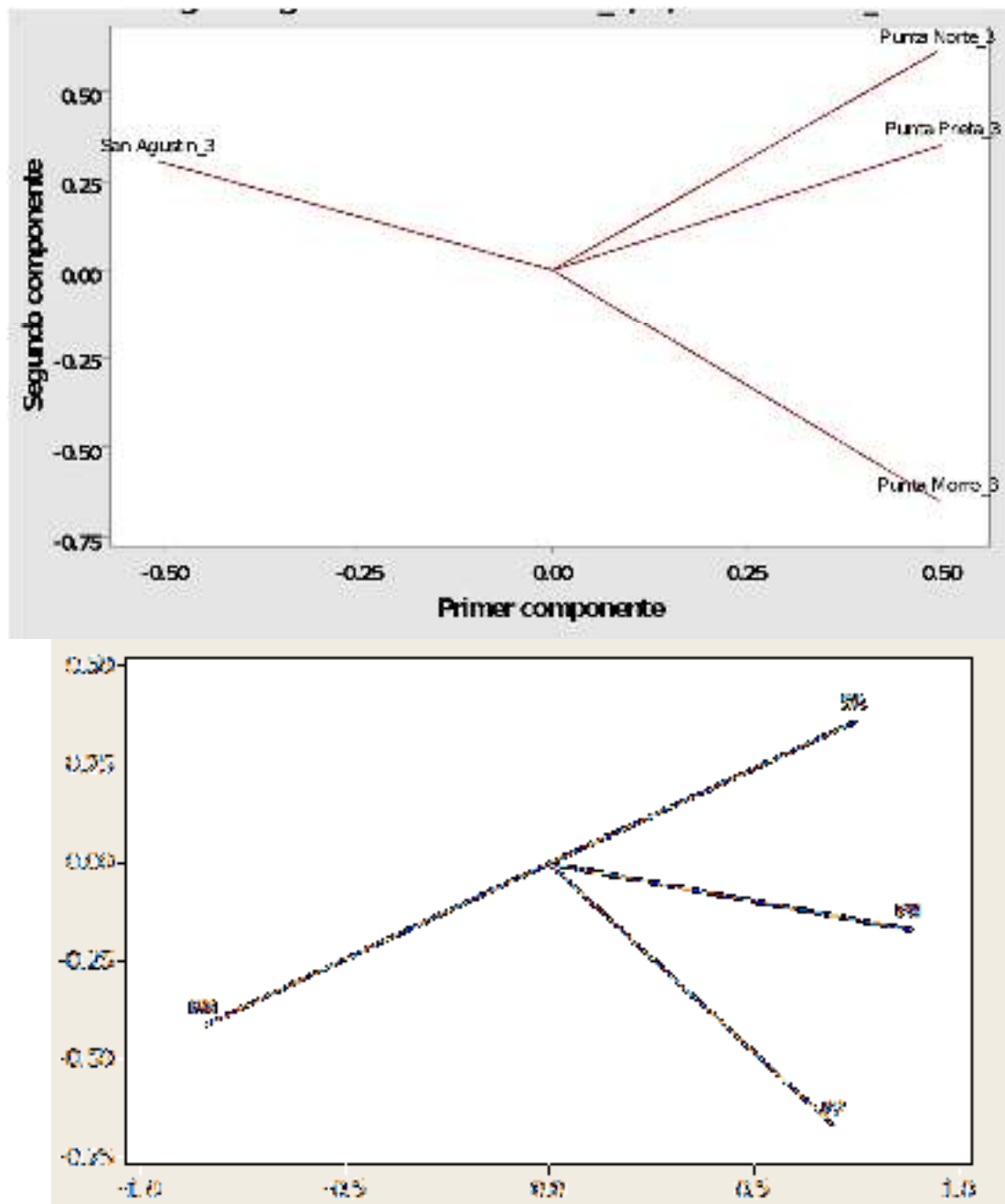


Figura 12. Distribución de las localidades según sus similitudes de las razones de los siete parámetros: altura, largo exterior, ancho exterior, largo interior, ancho interior, largo de la línea

muscular y ancho línea muscular parámetros medidos de la concha con respecto a largo interior de la lapa *Lottia gigantea* provenientes de cuatro localidades de isla Cedros.

5.2 Análisis genético

5.2.1 Frecuencias alélicas de *Lottia gigantea*

Se analizaron 10 sistemas enzimáticos, de los cuales seis resolvieron satisfactoriamente con un total de 14 loci. Las frecuencias alélicas de los 14 loci de las cuatro poblaciones de *Lottia gigantea* se muestran en la Tabla V. Se observó en los locus PGM-1, PGM-2, MDH-1, PEP-1 y PEP-5 para las cuatro poblaciones, el alelo B se presenta en frecuencias mayores con respecto al alelo A. En el locus MDH-2, el alelo B fue dominante en casi todas las poblaciones, con la excepción de PP con el alelo A. En el locus PEP-2, con la excepción de PP, el resto de las poblaciones es dominante el alelo A.

Tabla V. Frecuencias alélicas en las cuatro localidades de la lapa *Lottia gigantea* (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro) en la isla de Cedros. N: número de individuos analizados; PGM-1 y PGM-2: Fosfo-glucomutasa; MDH-1 y MDH-2: malato deshidrogenasa; PEP-1: péptidasa.

Loci/Localidad	PN	SA	PP	PM
PGM-1				
N	16	25	14	43
A	0.281	0.320	0.286	0.465
B	0.719	0.680	0.741	0.535
PGM-2				
N	15	25	17	45
A	0.300	0.480	0.412	0.444
B	0.700	0.520	0.588	0.556

MDH-1

N	8	16	18	13
A	0.500	0.281	0.444	0.500
B	0.500	0.719	0.556	0.500

MDH-2

N	13	26	22	42
A	0.308	0.481	0.614	0.464
B	0.692	0.519	0.386	0.536

PEP-1

N	12	15	13	19
A	0.542	0.333	0.269	0.447
B	0.458	0.667	0.731	0.553

PEP-2

N	11	24	8	25
A	0.500	0.542	0.375	0.600
B	0.500	0.458	0.625	0.400

PEP-3

N	9	17	9	16
A	0.556	0.676	0.444	0.656
B	0.444	0.324	0.556	0.344

PEP-4

N	8	14	4	13
A	0.563	0.536	0.625	0.654
B	0.438	0.464	0.375	0.346

PEP-5

N	2	4	3	5
A	0.000	0.250	0.167	0.300
B	1.000	0.750	0.833	0.700

PGI-1

N	14	28	14	21
A	0.607	0.464	0.536	0.690
B	0.393	0.629	0.467	0.310

IDH-1

N	13	31	15	40
A	0.423	0.371	0.533	0.613
B	0.577	0.629	0.467	0.387
HK-1				
N	10	9	10	11
A	0.300	0.333	0.550	0.545
B	0.700	0.667	0.450	0.455
HK-2				
N	10	11	8	11
A	0.700	0.773	0.688	0.773
B	0.300	0.227	0.313	0.227
HK-3				
N	6	8	7	8
A	0.917	0.875	0.786	0.813
B	0.083	0.125	0.214	0.188

En el locus PEP-3, todas las poblaciones presentaron mayor frecuencia en el alelo A; en PN con 0.556, SA con 0.676 y en PM con 0.656 exceptuando a PP con una frecuencia mayor en el alelo B (0.556).

En el locus PEP-4, todas las poblaciones manifestaron frecuencias mayores en el alelo A. El alelo A de HK-2 y HK-3 presentó frecuencias mayores que B en todas las poblaciones. En el alelo A de PGI-1 con la excepción de SA el resto de las poblaciones presento frecuencias mayores que B. En los loci IDH-1 y HK-1 se mostró una mayor frecuencia para el alelo A en las poblaciones de PP y PM y una mayor frecuencia en el alelo B para PN y PP. No se identificó un patrón de variación definido entre las frecuencias alélicas en las poblaciones y entre los loci de *L. gigantea*.

Los resultados del análisis comparativo de las frecuencias alélicas a nivel interpoblacional (prueba de Markov) de los 14 loci se observan en la Tabla VI. Con la excepción de SA y PM para PGM-1 e IDH-1 y PN y PP para MDH-2, el resto de las comparaciones no existen diferencias significativas en la variación alélica.

Tabla VI Comparación de frecuencias alélicas por locus entre pares de poblaciones por el Método de Cadena de Markov. Tabla 14a (PGM-1), b (PGM-2), c (MDH-1), d (MDH-2), e (PEP-1), f (PEP-2), g (PEP-3), h (PEP-4), i (PEP-5), j (PGI-1), k (IDH-1), l (HK-1), m (HK-2), n (HK-3), ñ (14 loci). Valor P (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro. Nivel de significancia: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, NS= no significativo.

a					f					j				
PGM-1	PN	SA	PP	PM	PGM-2	PN	SA	PP	PM	PGI-1	PN	SA	PP	PM
MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS
MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS
MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS
b					g					k				
PGM-2	PN	SA	PP	PM	PEP-1	PN	SA	PP	PM	IDH-1	PN	SA	PP	PM
MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS
MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS
MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS
c					h					l				
MDH-1	PN	SA	PP	PM	PEP-2	PN	SA	PP	PM	HK-1	PN	SA	PP	PM
MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS
MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS
MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS
d					i					m				
MDH-2	PN	SA	PP	PM	PEP-3	PN	SA	PP	PM	HK-2	PN	SA	PP	PM
MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS
MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS
MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS
e					ñ					n				
PEP-4	PN	SA	PP	PM	14 loci	PN	SA	PP	PM	HK-3	PN	SA	PP	PM
MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS	MA	0.000	NS	NS	NS
MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS	MB	0.000	0.000	NS	NS
MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS	MC	0.000	0.000	0.000	NS

5.2.2 Frecuencias genotípicas, diferenciación de heterocigocis y equilibrio de Hardy-Weinberg

Las cuatro poblaciones en el locus PGM-1 presentaron deficiencia de heterocigocis pero la única con valor significativo fue SA ($D = -0.820$ y $\chi^2 = 17.729$). En PGM-2 las poblaciones de SA, PP y PM presentaron deficiencias significativas de heterocigotos y PN con exceso no significativo ($D = -0.529$ y $\chi^2 = 7.284$ para SA, de $D = -0.529$ y $\chi^2 = 5.067$ para PP y de $D = -0.555$ y $\chi^2 = 14.184$ para PM y PN de $D = 0.07$ y $\chi^2 = 0.091$).

Tabla VII Frecuencias genéticas en las cuatro localidades de la lapa *Lottia gigantea* provenientes de isla Cedros (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro). N: número de individuos analizados; χ^2 (g.l): valor de la prueba Ji-cuadrada. (Nivel de significancia 10*, $p_{0.95}$ de 3.84; 5** $p_{0.99}$ de 6.63; 1***, $p_{0.999}$ de 10.8); P: probabilidad; D: deficiencia de heterocigotos; g.l.:2;

Locus	PN	SA	PP	PM
PGM-1				
n	16	25	14	43
AA	0.125 (0.0725)	0.280 (0.097)	0.142 (0.740)	0.255 (0.213)
AB	0.312 (0.417)	0.080 (0.444)	0.285 (0.423)	0.418 (0.503)
BB	0.562 (0.510)	0.640 (0.457)	0.571 (0.502)	0.325 (0.283)
χ^2 (g.l)	1.113 (1.000)	17.729 (1.000)	1.652 (1.000)	1.250 (1.000)
P	0.291	0.000	0.199	0.264
D	-0.251	-0.820	-0.325	-0.168
		*		
PGM-2				
N	15	25	17	45
AA	0.0666 (0.0827)	0.360 (0.225)	0.294 (0.162)	0.333 (0.194)

AB	0.466 (0.434)	0.240 (0.509)	0.235 (0.499)	0.222 (0.499)
BB	0.466 (0.482)	0.400 (0.265)	0.470 (0.338)	0.444 (0.305)
X2 (g.l)	0.091 (1.000)	7.284 (1.000)	5.067 (1.000)	14.184 (1.000)
P	0.763	0.007	0.024	0.000
D	0.074	-0.529 *	-0.529 *	-0.555 *

MDH-1				
N	8	16	18	13
AA	0.375 (0.233)	0.000 (0.072)	0.111 (0.190)	0.230 (0.240)
AB	0.250 (0.533)	0.562 (0.417)	0.666 (0.507)	0.538 (0.520)
BB	0.375 (0.233)	0.437 (0.510)	0.222 (0.301)	0.230 (0.240)
X2 (g.l)	2.580 (1.000)	2.134 (1.000)	1.864 (1.000)	0.018 (1.000)
P	0.108	0.144	0.172	0.894
D	-0.531	0.348	0.312	0.036

MDH-2				
N	13	26	22	42
AA	0.153 (0.086)	0.192 (0.226)	0.454 (0.371)	0.238 (0.212)
AB	0.307 (0.443)	0.576 (0.509)	0.318 (0.485)	0.452 (0.503)
BB	0.538 (0.470)	0.230 (0.264)	0.227 (0.143)	0.309 (0.284)
X2 (g.l)	1.356 (1.000)	0.481 (1.000)	2.746 (1.000)	0.443 (1.000)
P	0.244	0.488	0.098	0.506
D	-0.306	0.133	-0.344	-0.101

PEP-1

N	12	15	13	19
AA	0.250 (0.282)	0.066 (0.100)	0.153 (0.646)	0.315 (0.193)
AB	0.583 (0.518)	0.533 (0.459)	0.230 (0.409)	0.263 (0.507)
BB	0.208 (1.000)	0.400 (0.436)	0.615 (0.526)	0.421 (0.298)
X2 (g.l)	0.208 (1.000)	0.419 (1.000)	2.810 (1.000)	4.661 (1.000)
P	0.649	0.517	0.094	0.031
D	0.126	0.160	-0.436	-0.482 *
PEP-2				
N	11	24	8	25
AA	0.090 (0.238)	0.166 (0.288)	0.250 (0.125)	0.400 (0.355)
AB	0.818 (0.523)	0.750 (0.507)	0.250 (0.500)	0.400 (0.489)
BB	0.090 (0.238)	0.0833 (0.204)	0.5000 (0.3750)	0.200 (0.151)
X2 (g.l)	3.821 (1.000)	5.750 (1.000)	2.333 (1.000)	0.878 (1.000)
P	0.051	0.016	0.127	0.349
D	0.562	0.479 *	-0.500	-0.183
PEP-3				
N	9	17	9	16
AA	0.111 (0.294)	0.352 (0.451)	0.222 (0.183)	0.375 (0.423)
AB	0.888 (0.522)	0.647 (0.451)	0.444 (0.522)	0.562 (0.465)
BB	0.000 (0.183)	0.000 (0.098)	0.333 (0.294)	0.062 (0.110)
X2 (g.l)	4.978 (1.000)	3.478 (1.000)	0.229 (1.000)	0.748 (1.000)
P	0.026	0.062	0.633	0.387
D	0.700 *	0.435	-0.150	0.208

PEP-4				
N	8	14	4	13
AA	0.375 (0.300)	0.214 (0.277)	0.500 (0.357)	0.384 (0.418)
AB	0.375 (0.525)	0.642 (0.515)	0.250 (0.535)	0.538 (0.470)
BB	0.250 (0.175)	0.142 (0.206)	0.250 (0.107)	0.076 (0.110)
X2 (g.l)	.750 (1.000)	0.914 (1.000)	1.600 (1.000)	0.297 (1.000)
P	0.386	0.339	0.206	0.586
D	-0.286	0.246	-0.533	0.144

PEP-5				
N	0	4	3	5
AA	0.000	0.000 (0.035)	0.000 (0.000)	0.200 (0.066)
AB	0.000	0.500 (0.435)	0.333 (0.333)	0.200 (0.466)
BB	0.000	0.500 (0.535)	0.666 (0.666)	0.600 (1.000)
X2 (g.l)	0.000 (1.000)	0.200 (1.000)	0.000 (1.000)	2.286 (1.000)
P	0.000	0.655	1.000	0.131
D	0.000	0.167	0.000	-0.571

PGI-1				
N	14	28	14	21
AA	0.428 (0.359)	0.178 (0.211)	0.285 (0.277)	0.428 (0.471)
AB	0.357 (0.494)	0.571 (0.506)	0.500 (0.515)	0.523 (0.437)
BB	0.214 (0.145)	0.250 (0.282)	0.214 (0.206)	0.047 (0.905)
X2 (g.l)	1.175 (1.000)	0.477 (1.000)	0.014 (1.000)	0.865 (1.000)
P	0.278	0.490	0.905	0.352
D	-0.278	0.128	-0.310	0.196

IDH-1

N	13	31	15	40
AA	0.230 (0.169)	0.161 (0.133)	0.400 (0.275)	0.450 (0.372)
AB	0.384 (0.507)	0.419 (0.474)	0.333 (0.514)	0.325 (0.480)
BB	0.384 (0.323)	0.419 (0.3918)	0.266 (0.209)	0.225 (0.147)
X2 (g.l)	0.831 (1.000)	0.433 (1.000)	3.738 (1.000)	4.316 (1.000)
P	0.362	0.511	0.053	0.038
D	-0.242	-0.116	-0.482	-0.324 *
HK-1				
N	10	9	10	11
AA	0.100 (0.078)	0.111 (0.098)	0.400 (0.289)	0.090 (0.285)
AB	0.400 (0.442)	0.444 (0.470)	0.300 (0.521)	0.909 (0.519)
BB	0.500 (0.478)	0.444 (0.431)	0.300 (0.189)	0.000 (0.194)
X2 (g.l)	0.105 (1.000)	0.032 (1.000)	2.000 (1.000)	6.818 (1.000)
P	0.745	0.857	0.157	0.009
D	-0.095	-0.056	-0.424	0.750 *
HK-2				
n	10	11	8	11
AA	0.500 (0.478)	0.636 (0.588)	0.500 (0.458)	0.545 (0.588)
AB	0.400 (0.442)	0.272 (0.368)	0.375 (0.458)	0.454 (0.368)
BB	0.100 (0.078)	0.909 (0.432)	0.125 (0.083)	0.000 (0.043)
X2 (g.l)	0.105 (1.000)	0.890 (1.000)	0.318 (1.000)	0.735 (1.000)
P	0.745	0.346	0.573	0.391
D	-0.095	-0.259	-0.182	0.235
HK-3				

n	6	8	7	8
AA	0.833 (0.833)	0.750 (0.758)	0.714 (0.604)	0.625 (0.650)
AB	0.166 (0.166)	0.250 (0.233)	0.142 (0.362)	0.375 (0.325)
BB	0.000 (0.000)	0.000 (0.008)	0.142 (0.033)	0.000 (0.025)
X ² (g.l)	0.0000 (1.000)	0.077 (1.000)	3.636 (1.000)	0.269 (1.000)
P	1.000	0.782	0.057	0.604
D	0.000	0.071	-0.606	0.154

En el locus MDH-1 las localidades de SA, PP y PM presentaron un exceso no significativo de heterocigotos (D= 0.348 y $x^2= 2.134$; D= 0.312 y $x^2= 1.864$ y D= 0.036 y $x^2= 0.018$ respectivamente) y PN con una deficiencia no significativa D=-0.531 $x^2=2.58$) (Tabla VI).

En el locus MDH-2 las poblaciones de PN, PP y PM presentaron deficiencia de heterocigotos no significativos (D=-0.306 y $x^2=1.356$, D= -0.344 y $x^2=2.746$, D= -0.101 y $x^2=0.443$ respectivamente). La población de SA, fue la única en presentar para el locus MDH-2 un exceso de heterocigocis no significativo (D= 0.133 y $x^2=0.481$) (Tabla VII).

En el locus PEP-1 PM fue la única población que reveló una deficiencia significativa de heterocigocis (D= -0.482 y $x^2=4.661$). En el loci PEP-2, los organismos de SA presentaron valores de exceso de heterocigotos significativos (D= 0.479 y $x^2=5.780$). En el locus PEP-3 únicamente la población de PN que exhibió un exceso de heterocigotos significativo (D= 0.700 y $x^2=4.978$). En el locus PEP-4 no se presentaron valores significativos.

En el locus PEP-5 (Tabla VII), se observó que para la población de PN ninguno de los individuos analizados reveló para este locus. No obstante de llevar a cabo varias pruebas no fue posible que resolviera por lo que se supone no reveló porque posiblemente se degradó la proteína. No se presentaron valores significativos en las localidades restantes: SA ($D=0.167$ y $\chi^2=0.200$), PP ($D=0.000$ y $\chi^2=0$) y PM ($D=-0.571$ $\chi^2=2.286$).

En PGI-1 PN y PP presentaron deficiencias de heterocigotos no significativas ($D= -0.278$ con $\chi^2= 1.175$ y $D= -0.310$ con $\chi^2= 0.014$ respectivamente); por el contrario, SA y PM obtuvieron excesos no significativos de heterocigotos ($D=0.128$ con $\chi^2= 0.477$ y $D= 0.196$ con $\chi^2= 0.865$ respectivamente).

En el locus IDH-1 las cuatro poblaciones presentaron deficiencias de heterocigotos con la excepción de PM con un valor significativo ($D= -0.324$ y $\chi^2= 4.316$) (Tabla VII).

En la revelación de HK-1 solo los organismos pertenecientes a PM presentaron un exceso significativo de heterocigocis ($D=0.750$ y $\chi^2=6.818$). En el locus HK-2 se observa que las poblaciones siguieron el mismo patrón que HK-1, con la excepción de que no es significativo. Para el caso de HK-3 las cuatro poblaciones están en desequilibrio de HW no significativo.

En la tabla VIII se presentan los principales estimadores genéticos. El número promedio de muestra por locus presentó valores entre 10.5 y 22.3. Todas las poblaciones presentaron un polimorfismo del 100% excepto PN con 92.9 %. La

heterocigocidad observada (H_o) promedio fué de 0.328 a 0.464. La heterocigocidad esperada (H_e) con valores de 0.427 a 0.471. De las cuatro poblaciones, solo SA presento un exceso de heterocigocis y el resto con deficiencias.

Tabla VIII Resumen de los principales estimadores de la variación genética en cuatro poblaciones de *Lottia gigantea* en Isla Cedros. SE: error estándar.

Localidades	Punta Norte	San Agustín	Punta Prieta	Punta Morro
Promedio de muestra por locus	10.5 (1.0)	18.1 (2.3)	11.6 (1.5)	22.3 (3.8)
Numero de Alelos Promedio por Locus (SE)	1.9 (0.1)	2.0 (0.0)	2.0 (0.0)	2.0 (0.0)
Loci Polimórficos %	92.9	100.0	100.0	100.0
Heterocigocidad Observada Promedio (eo)	0.408 (0.062)	0.464 (0.051)	0.328 (0.036)	0.442 (0.048)
Heterocigocidad Esperada Promedio (ee)	0.427 (0.041)	0.450 (0.02)	0.471 (0.017)	0.468 (0.015)

La tabla IX a-m se presentan los resultados del análisis de las frecuencias genotípicas por pares de poblaciones por locus, empleando el método de la cadena de Markov y la comparación de interpoblacional que incluye los 14 loci está en la Tabla IXn. Como se puede observar los resultados de las comparaciones identifican valores no significativos, de la misma manera que las frecuencias genotípicas por

pares y en todos los loci es decir, se acepta la hipótesis nula donde los datos presentes son dependientes del dato anterior inmediato, mas no a los anteriores a estos, por lo que las variables entre las poblaciones son dependientes.

IX Comparación de frecuencias genotípicas por locus entre pares de poblaciones por el método de cadena de Markov. Tabla 6a (PGM-1), b (PGM-2), c (MDH-1), d (MDH-2), e (PEP-1), f (PEP-2), g (PEP-3), h (PEP-4), i (PEP-5), j (PGI-1), k (IDH-1), l (HK-1), m (HK-2), n (HK-3), ñ (14 loci). Valor P (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro. Nivel de significancia: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, NS= no significativo.

a					f					i				
PGM-1	PN	SA	PP	PM	PGM-1	PN	SA	PP	PM	IDH-1	PN	SA	PP	PM
PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS
SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS
PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS
PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000	
b					g					j				
PGM-2	PN	SA	PP	PM	PGM-2	PN	SA	PP	PM	PGI-1	PN	SA	PP	PM
PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS
SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS
PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS
PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000	
c					h					l				
MDH-1	PN	SA	PP	PM	MDH-1	PN	SA	PP	PM	HK-1	PN	SA	PP	PM
PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS
SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS
PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS
PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000	
d					i					m				
MDH-2	PN	SA	PP	PM	MDH-2	PN	SA	PP	PM	HK-2	PN	SA	PP	PM
PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS
SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS
PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS
PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000	
e					j					n				
PEP-1	PN	SA	PP	PM	PEP-1	PN	SA	PP	PM	HK-3	PN	SA	PP	PM
PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS
SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS
PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS
PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000	
f					k					ñ				
PEP-2	PN	SA	PP	PM	PEP-2	PN	SA	PP	PM	14 loci	PN	SA	PP	PM
PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS	PN		NS	NS	NS
SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS	SA	0.000		NS	NS
PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS	PP	0.000	0.000		NS
PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000		PM	0.000	0.000	0.000	

5.2.3 Distancias Genéticas de Nei (1978) entre las localidades de *L. gigantea*

Los valores de distancia e identidad genética de Nei (1978) de las poblaciones de *Lottia gigantea*, se muestran en la Tabla X. Los valores de distancia genética de Nei (arriba de la diagonal) resolvieron valores entre 0 a 0.009. Los valores de similitud genética (debajo de la diagonal) oscilan de 0.991 a 1.

Tabla X Distancia genética de Nei (1978) (arriba de la diagonal) y similitud genética (debajo de la diagonal) para *Lottia gigantea* de cuatro localidades provenientes de isla Cedros (BIOSYS-1).

Localidad	PN	SA	PP	PM
PN	*****	0.001	0.001	0.009
SA	0.999	*****	0	0.005
PP	0.999	1	*****	0
PM	0.991	0.995	1	*****

5.2.4 Estadísticos F en *Lottia gigantea*.

En relación a los estadísticos F de Wright (Fis, Fit, Fst) de las poblaciones de *Lottia gigantea*, se muestran en la Tabla XI. El coeficiente de endogamia dentro de las poblaciones Fis, indica que nueve loci presentan una deficiencia de heterocigotos, y cinco loci presentan un exceso de heterocigotos. El índice Fis total de los loci dio un valor de 0.055, indicando una deficiencia de heterocigocis. Los coeficientes de endogamia entre poblaciones (Fis) y endogamia total (Fit) mostraron

correspondencia en la mayoría de los valores, excepto en el locus PGI-1 donde Fis es negativo (-0.028) y Fit es positivo (0.002). La correlación de Fis y Fit en el promedio total es positiva en ambas. El coeficiente de fijación Fst presento valores cercanos a cero para todos los loci, indicando un fuerte flujo genético entre las poblaciones.

Tabla XI Valores de los índices Fis, Fit y Fst (Weir y Cockerham 1984), de la identidad por descendencia, para las poblaciones de *Lottia gigantea* en Isla Cedros.

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)
PGM-1	0.372	0.387	0.025
PGM-2	0.386	0.398	0.019
MDH-1	-0.063	-0.028	0.033
MDH-2	0.127	0.169	0.047
PEP-1	0.119	0.160	0.046
PEP-2	-0.140	-0.109	0.027
PEP-3	-0.355	-0.308	0.035
PEP-4	0.055	0.064	0.009
PEP-5	0.037	0.122	0.088
PGI-1	-0.028	0.002	0.029
IDH-1	0.276	0.302	0.035
HK-1	-0.107	-0.046	0.055
HK-2	0.320	0.400	0.008
HK-3	0.077	0.096	0.020
Promedio	0.055	0.087	0.033

En la comparación por pares de poblaciones del estadístico F_{st} con relación a la distancia genética de Nei (1978) (Tabla XII), se observa que existe una correspondencia positiva entre los valores de F_{st} y de distancia, es decir al aumentar la distancia genética aumenta el valor de F_{st} y viceversa.

Tabla XII Comparación por pares de poblaciones del estadístico de F_{st} (debajo de la diagonal) y valores de la distancia genética de Nei, 1978 (arriba de la diagonal) de la lapa *Lottia gigantea* en Isla Cedros (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro).

	PN	SA	PP	PM
PN	_____	0.001	0.001	0.009
SA	0.029	_____	0	0.005
PP	0.028	0.021	_____	0
PM	0.029	0.025	0.018	_____

El número de migrantes entre poblaciones de la lapa *Lottia gigantea* se muestra en la Tabla XIII. Se puede observar que entre PM y PP son las localidades en que se presenta un mayor número de migrantes (13.638). Donde se observa un menor flujo de migración es en las localidades de PN con SA y PM de 8.370 migrantes en ambos. En relación con el índice de fijación (F_{st}), se obtiene que las localidades de PN con SA y PM presentan un valor más alto (0.029). La localidad de PM con PP obtuvo el valor de F_{st} más bajo (0.018). En todas las comparaciones interpoblacionales el número de migrantes dieron valores $N_m > 1$, por lo que se infiere que la deriva génica no se presenta en las poblaciones de *Lottia gigantea* en

isla Cedros. Como se puede observar al aumentar la distancia genica aumenta el valor de F_{st} dada por la disminuci3n del n3mero de migrantes, es decir una reducci3n en el flujo g3nico y viceversa.

Tabla XIII Comparaci3n por pares de poblaciones del estadístico de F_{st} (debajo de la diagonal) y n3mero de migrantes N_m (arriba de la diagonal) de la lapa *Lottia gigantea* en Isla Cedros (PN: Punta Norte; SA: San Agustín; PP: Punta Prieta; PM: Punta Morro).

	PN	SA	PP	PM
PN	_____	8.370	8.678	8.370
SA	0.029	_____	11.654	9.750
PP	0.028	0.021	_____	13.638
PM	0.029	0.025	0.018	_____

El análisis de moléculas han sido utilizados para la comprensi3n de fenómenos biológicos, pero el estudio del ADN, RNA y las proteínas han abierto nuevas perspectivas para el manejo e interpretaci3n de la complejidad de los organismos. Al utilizar proteínas para el uso de marcador molecular, nos garantiza que los datos obtenidos son debido a la interacci3n directa con el medio ambiente y que son la forma de expresi3n del fenotipo debido a que en el material genético se encuentran las bases configuradas de la expresi3n de proteínas, pero no garantiza su utilizaci3n.

6 DISCUSIÓN

El cambio climático es la variación global del clima de la Tierra, debido a causas naturales y a la acción del hombre que se producen a muy diversas escalas de tiempo y, a su vez, sobre todos los parámetros climáticos: temperatura, precipitaciones, nubosidad, etc. Además de éstos, existen otros factores como lo son la profundidad, la altitud, la salinidad que influyen en la biología de los organismos produciendo variaciones a nivel morfológico, genético, bioquímico o fisiológico en las poblaciones y en las especies. Estas diferenciaciones en las poblaciones de una especie dependerán, a su vez, de la amplitud o la extensión geográfica de la especie. Considerando lo anterior, antes de iniciar cualquier plan de manejo y conservación de los recursos bióticos, es necesario conocer los aspectos biológicos básicos de las especies y del medio donde habitan.

Para estudiar y analizar las respuestas y adaptaciones de los organismos, es importante que sea con un enfoque multidisciplinario. Se puede señalar, sin ser categórico, que ningún resultado y conclusión que se obtenga a partir de un solo análisis, estudio o enfoque podrá ser concluyente. Solo con diferentes niveles de estudio es posible que se tenga una mejor aproximación de la realidad pues las derivaciones de estos estudios podrán complementarse unos con otros fortaleciendo de esta manera, los resultados en su conjunto. A continuación la discusión se aborda en tres partes la primera

sobre los resultados de morfometría, la segunda referente sobre la variabilidad y estructura genética poblacional y la tercera donde se integran los dos temas.

6.1 Análisis morfométrico

A partir de los resultados no se observan variaciones morfométricas que indiquen la existencia de una diferenciación poblacional. Sin embargo en los resultados del ACP y los FEOs indican probablemente el efecto del medio ambiente sobre los organismos. Es posible interpretar la posición de los grupos o “clusters”, en función de las condiciones ambientales de cada localidad (Fig. 10 y Fig. 11). De acuerdo con lo anterior, éstos probablemente reflejen ciertas variantes del medio ambiente, en lo particular a aquellas que están relacionadas con el grado de exposición al oleaje y a la pendiente. Por ejemplo, el grado de la pendiente del intermareal de PN es la tercera más alta de las pendientes ($PN=12^\circ$) y presenta un fuerte oleaje; sin embargo, en PP la zona del intermareal está formada por plataformas con la mayor pendiente (19°) y posee un intenso oleaje. Por otro lado, la franja del intermareal de PM está expuesta al oleaje pero la energía de ésta se disipa al presentar una pendiente o inclinación suave ($PM=05^\circ$), mientras que la zona del intermareal de SA presenta la segunda pendiente más alta ($SA=15^\circ$) y esta semiprotegido del oleaje al encontrarse en una pequeña bahía.

Ahora bien, si se considera al componente 1 del análisis ACP, se observan dos grupos (ver fig. 11), el primero formado por PN, PP y PM con valores positivos y el segundo grupo formado por SA con valor negativo. Al analizar las posibles

diferencias que existen en ambos, los organismos de SA son los únicos que, a pesar de habitar en una zona con una pendiente pronunciada, éstos se encuentran en un cuerpo de agua semiprotegido, con respecto al resto de las poblaciones. Por otro lado, si se considera el grupo compuesto por PN, PP y PM en la componente 1, éstos a su vez, se pueden subdividir en función de la componente 2, formando un subgrupo constituido por PN y PP, con valores positivos; el segundo subgrupo estaría formado por PM, con valor negativo en el componente 2. De acuerdo con lo anterior, las diferencias entre estos subgrupos radican en que en las poblaciones de PN y PP habitan en la zona del intermareal con pendientes mayores de 12°, en la cual los organismos están sometidos a un oleaje intenso o de mayor energía; mientras que PM, al presentar un valor negativo en el componente 2, podría deberse a que los organismos, a pesar de estar expuestos al oleaje, la energía de ésta se disipa en el intermareal al presentar una pendiente suave de 5°.

Al emplear el ACP con las medidas de los parámetros morfométricos en las conchas de los organismos de *Lottia gigantea*, su interpretación se hace al considerar las diferencias en la morfometría (no la morfología de la especie) y de los agentes que han moldeado o que inciden en la forma que presentan actualmente y que le han permitido sobrevivir. En el análisis merístico de las conchas por medio del ACP, es posible construir hipótesis para relacionar el medio ambiente con la biología del organismo, es decir, en sus adaptaciones a nivel morfológico. Los organismos pertenecientes a la localidad de Punta Norte son las lapas que

obtuvieron los tamaños morfométricos más grandes, encontrándose en un ambiente con alto grado de estrés a diferencia del resto de las localidades.

Otros estudios en donde se ha aplicado el ACP con datos morfométricos, se ha podido diferenciar a nivel de subgéneros los géneros de *Lyropecten* (Cid Becerra, 2002) y *Chione* (Licona-Chávez *et al.*, 2007). En el caso del género *Lyropecten* resolvió la diferenciación taxonómica en dos subgéneros, *Lyropecten* (Nodipecten) para el Pacífico Nororiental y *Lyropecten* (*Lyropecten*) para el Atlántico Occidental. En el trabajo realizado con el género *Chione* (Licona-Chávez, 2007) los resultados del ACP concuerdan y apoyan la clasificación taxonómica propuesta por Keen (1972) y no de Roopnarine (2009).

6.2 Estructura genética poblacional

En relación a los estudios sobre genética de poblaciones en torno a la especie *Lottia gigantea*, es la primera vez que se realiza una caracterización con el uso de alozimas como marcadores moleculares. De acuerdo a los resultados de la prueba de F de Wright (Tabla XI), los organismos provenientes de las cuatro localidades demuestran que se trata de una misma población, observándose un flujo de genes con una tasa de migración de 8 a 13 individuos por generación; lo anterior concuerda con los valores de Identidad Genética (I) de Nei entre las localidades (1978) con valores que oscilan entre 0.99 y 1.

Al observar la distribución geográfica de *Lottia gigantea*, las poblaciones analizadas en el presente estudio corresponden al extremo sur de su amplitud geográfica; además, éstas se sitúan en la zona de transición de tres provincias biogeográficas: la californiana, la mexicana y la Cortesiana. Si se plantea la hipótesis que con el calentamiento global el área de esta especie debería, en teoría, estar desplazándose hacia el norte (Stillman *et al.*, 1996) las poblaciones del presente estudio podría eventualmente presentar valores de heterocigocis más bajos, aspecto que no se cumple en el presente estudio. En un desplazamiento hacia el norte del área geográfica, las poblaciones que se encuentran en la retaguardia, en teoría estarían aisladas de la población principal con un bajo o nulo flujo génico y con tendencia a endogamia y deriva génica. Por el contrario, los valores de la que se señalan en el presente estudio indican que existe un flujo de genes considerable, influida por la Corriente de California con dirección de norte a sur, además, exhiben valores de heterocigocis promedio para patélidos, por lo que reflejan una buena salud genética.

identificaron cuatro loci diagnósticos que logran separar a dos especies gemelas: ARK-2, GLP-2, PHP-1 y MDH-1. Las especies crípticas se diferenciaron con un valor de $I=0.258$. Considerando lo anterior, en el presente estudio realizado con *L. gigantea*, de los 14 loci analizados no se logró identificar algún locus que fuese diagnóstico.

En otros estudios como el presentado por Weber y Hawkins (2005) quienes analizaron las subespecies de *Patella ulyssiponensis* empleando 21 loci. En su trabajo señalan que lograron resolver e identificar varias subespecies de *Patella* distribuidas en 11 localidades de Europa y el Este de África. Los valores promedio de H_o varían de 0.200 a 0.206, mientras que los valores de H_e oscilan entre 0.230 a 0.231, valores que son inferiores a los encontrados en el presente estudio.

Al considerar los trabajos anteriores y el presente estudio, los análisis electroforéticos de alozimas es una herramienta muy útil para la diferenciación de especies crípticas, además de aportar información sobre las relaciones filogenéticas y, hasta cierto grado, sobre las condiciones o aspectos ecológicos en donde viven las especies. Es decir, se puede lograr una caracterización de las poblaciones y especies desde la perspectiva de la bioquímica sistemática y ecológica. Este tipo de trabajo ayuda a la aproximación del conocimiento sobre la biología de las especies.

6.3 Enfoque multidisciplinario

Del análisis de los resultados a nivel morfológico y genético, éstos concuerdan al revelar que los organismos de Puna Norte, San Agustín, Punta Prieta y Punta Morro de la isla de Cedros, son una misma población. Sin embargo, a nivel alozimico, la resolución del efecto del medio ambiente aparentemente no se refleja cómo se esperaría, al menos, con el número de loci analizados. En contraste, en el análisis morfométrico con el uso de parámetros merísticos por medio del ACP y los FEOs, éste se puede interpretar como un reflejo de los rasgos fenéticos de los organismos que son favorecidos de acuerdo a las variaciones ambientales en las cuales se encuentra cada población.

Bajo este enfoque multidisciplinario, destaca el estudio de Kristof *et al.*, (2016) quienes realizaron una comparación morfogenética de organismos de *Lottia kagamogai* distribuido en el Mar de Japón, logrando diferenciar a dos especies por medio del citocromo b-oxidasa, 16SRNAr y 18RNAr. Sin embargo, la resolución que se logra a nivel morfológico no es lo suficiente pues los resultados indican que se trata de una misma especie.

Otro estudio es el de Shan-Shan *et al.*, (2014) quienes identificaron lapas de *Nipponacmea* en las costas del Mar de China por medio de marcadores mitocondriales citocromo b-oxidasa 1 y 2, marcadores nucleares 28S y H3 y el análisis morfológico de la rádula. Los resultados de los estudios concuerdan en la

distinción de especies *N. fuscoviridis* y *N. nigrans* y señalan que a partir del cambio climático es de esperar un incremento en la amplitud o extensión geográfica de la especie al tener la capacidad de adaptarse a temperaturas mayores a las actuales.

Nakano y Spencer (2007), analizaron la morfología de la rádula y los genes mitocondriales COI y nuclear ITS1 para definir el status de la especie *Notoacmea scapha* en las costas de Nueva Zelanda. Los resultados genéticos revelan que al menos este taxón está conformado por cinco especies crípticas. Lo anterior concuerda con los resultados del análisis morfológico de la rádula y, en menor grado de resolución al considerar los rasgos fenéticos de la concha.

7. CONCLUSION

La caracterización morfogenética de los organismos de *Lottia gigantea* provenientes de cuatro localidades de isla Cedros, demostró que se trata de una misma población la cual presenta diferencias morfométricas probablemente por las condiciones ambientales. La localidad de Punta Norte es donde se encuentran organismos de mayor tamaño, que el resto de las localidades presentes en el sur de la isla. Las variaciones ambientales se podrían ver reflejadas en la morfología y esta a su vez en el Análisis de Componentes Principales, que se puede relacionar a la fuerza del oleaje y al nivel de la pendiente que presenta el intermareal.

Los valores de identidad y distancia genética de Nei y de acuerdo a los índices F de Wright, la ausencia de diferencias es debida al alto flujo de genes que existe entre las localidades. Las diferencias morfométricas están relacionadas principalmente con la fuerza del oleaje y la pendiente del área donde habita *Lottia gigantea*.

8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo a los resultados del presente estudio, además de los encontrados en la literatura, se proponen como líneas de investigación el aplicar este tipo de análisis integrales de forma periódica o en forma regular, debido a que las condiciones ambientales se reflejan a nivel fenético expresándose éstas en la distribución espacial de los conjuntos en el ACP.

Entre otras líneas de investigación, se propone realizar los análisis utilizados en este trabajo para el resto de las poblaciones distribuidas en la costa occidental de Estados Unidos y México para obtener una mejor descripción de la biología de *Lottia gigantea* y sus respuestas adaptativas a lo largo de su distribución geográfica. De igual forma es importante profundizar en el análisis del contenido gastrointestinal y su relación funcional con la rádula, debido a que se reflejan en éste, las variantes ambientales como el sustrato y la alimentación; además de ser la rádula, una de las características morfológicas mayormente utilizadas para la clasificación de especies.

En relación al uso de marcadores genéticos ayudaría en estudiar la relación de las diferentes subpoblaciones a lo largo de su distribución. Además, se podría observar si se presenta un flujo genético entre las islas y el continente y si existe una diferencia marcada entre los organismos que se encuentran en el extremo norte de la distribución con los organismos del extremo sur. La identificación de loci

diagnósticos entre las poblaciones a lo largo de la distribución geográfica de *Lottia gigantea* se podría usar como método de identificación genética de las poblaciones y para la comparación de los diferentes loci y sus respuestas a medios ambientales, con el fin de obtener un grado de “sensibilidad térmica” de los loci abriendo la posibilidad de su utilización como marcadores ambientales. Con un estudio integrativo de análisis morfométricos y genéticos es posible la obtención de una caracterización precisa de los organismos de *Lottia gigantea*.

LITERATURA CITADA

- A. Sa-pinto, M. Branco, D. S. y P., & Alexandrino. (2008). Patterns of colonization , evolution and gene flow in species of the genus *Patella* in the Macaronesian Islands. *Molecular Ecology*, 17, 519–532. <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03563.x>
- Abbott, D. (1980). Interdial invertebrates of California. *The Museum Journal*, 24(4), 274–275.
- Allendorf, F. W., England, P. R., Luikart, G., Ritchie, P. A., & Ryman, N. (2008). Genetic effects of harvest on wild animal populations. *Trends in Ecology and Evolution*, 23(6), 327–337. <http://doi.org/10.1016/j.tree.2008.02.008>
- Arellano-Rodriguez, D., Correa-Sandoval, F., Trujillo-Ortiz, A., Ramirez-valdez, A., Aguilar-Rosas, L., & Camarena-Rosales, F. (2013). of *Lottia gigantea* of Isla de Cedros International Biogeography Society Conference Program and Abstracts, 6(December 2012), 239.
- Cavole, L., Demko, A., Diner, R. E., Giddings, A., Koester, I., Pagniello, C. M. L. S., ... F, L. B. (2016). Biological Impacts of the 2013 – 2015 Warm-Water Anomaly in the Northeast Pacific: winners, losers and the future. *Oceanoigraphy*, 29(2). <http://doi.org/10.5670/oceanog.2016.32>
- Chapman, A. D. M., Corte, A., & Brady, R. L. (1999). Structural Basis of Substrate Specificity in Malate Dehydrogenases: Crystal Structure of a Ternary Complex of Porcine Cytoplasmic Malate Dehydrogenase , a -Ketomalonate and TetrahydroNAD.
- Cid Becerra, J. A. (2002). Análisis Biogeográfico , Genético y Morfométrico de *Lyropecten* (*Nodipecten*) *subnodosus* (Sowerby , 1835) (Mollusca : Bivalvia) en el Pacífico

Oriental, 193.

- Cossu, P., Dedola, G. L., Scarpa, F., Sanna, D., Lai, T., Maltagliati, F., ... Casu, M. (2015). Patterns of spatial genetic variation in *Patella ulyssiponensis*: insights from the western Mediterranean marine ecoregion. *Hydrobiologia*, 755(1), 39–55. <http://doi.org/10.1007/s10750-015-2216-2>
- Cretella, M., Scillitani, G., Toscano, F., Turella, P., Picariello, O., & Cataudo, A. (1994). Relationships between *Patella ferruginea* Gmelin, 1791 and the other tyrrhenian species of *Patella* (Gastropoda: Patellidae). *Journal of Molluscan Studies*, 60(1), 9–17. <http://doi.org/10.1093/mollus/60.1.9>
- Crummett, L. T., & Eernisse, D. J. (2007). Genetic evidence for the cryptic species pair, *Lottia digitalis* and *Lottia austrodigitalis* and microhabitat partitioning in sympatry. *Marine Biology*, 152(1), 1–13. <http://doi.org/10.1007/s00227-007-0621-4>
- Denny, M. W., Blanchette, C. A., Station, H. M., & Grove, P. (2000). Hydrodynamics , shell shape , behavior and survivorship in the owl limpet *Lottia gigantea*. *The Journal of Experimental Biology*, 2639, 2623–2639.
- Denny, M. W., Dowd, W. W., Bilir, L., & Mach, K. J. (2011). Spreading the risk: Small-scale body temperature variation among intertidal organisms and its implications for species persistence. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 400(1–2), 175–190. <http://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.02.006>
- Denny, M. W., & Harley, C. D. G. (2006). Hot limpets: predicting body temperature in a conductance-mediated thermal system. *The Journal of Experimental Biology*, 209(Pt 13), 2409–19. <http://doi.org/10.1242/jeb.02257>

- Denny, M. W., Miller, L. P., & Harley, C. D. G. (2006). Thermal stress on intertidal limpets: long-term hindcasts and lethal limits. *The Journal of Experimental Biology*, 209(Pt 13), 2420–31. <http://doi.org/10.1242/jeb.02258>
- Dodd, B. J. M. (1956). Studies on the biology of limpets III. Hermaphroditism in the three british species of *Patella*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, (December 1945), 327–340.
- Dong, Y., & Somero, G. N. (2009). Temperature adaptation of cytosolic malate dehydrogenases of limpets (genus *Lottia*): differences in stability and function due to minor changes in sequence correlate with biogeographic and vertical distributions. *The Journal of Experimental Biology*, 212(Pt 2), 169–77. <http://doi.org/10.1242/jeb.024505>
- Erlandson, J. M., Braje, T. J., Rick, T. C., Jew, N. P., Kennett, D. J., Dwyer, N., ... Watts, J. (2011). 10,000 years of human predation and size changes in the owl limpet (*Lottia gigantea*) on San Miguel Island, California. *Journal of Archaeological Science*, 38(5), 1127–1134. <http://doi.org/10.1016/j.jas.2010.12.009>
- Fenberg, P. B., Hellberg, M. E., Mullen, L., & Roy, K. (2010). Genetic diversity and population structure of the size-selectively harvested owl limpet, *Lottia gigantea*. *Marine Ecology*, 31(4), 574–583. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2010.00386.x>
- Fenberg, P. B., & Rivadeneira, M. M. (2011). Range limits and geographic patterns of abundance of the rocky intertidal owl limpet, *Lottia gigantea*. *Journal of Biogeography*, 38(12), 2286–2298. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02572.x>
- García-Aguilar, M. C., & Gallo-Reynoso, J. P. (2012). Perros ferales en la isla de Cedros, Baja California, México: una posible amenaza para los pinnípedos. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83, 785–789. <http://doi.org/10.7550/rmb.24851>

- Goudet, J. (2016). FSTAT (Version 1 . 2): A computer program to Computer Note Computer Program to, (November 1994), 2–4.
- Guo, Q., Taper, M., Schoenberger, M., & Brandle, J. (2005). Spatial-temporal population dynamics across species range : from centre to margin. *Oikos*, 1(June 2004), 47–57.
- Harris, H., & Hopkinson, D. A. (1976). *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. North-Holland. Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=FhhVewAACAAJ>
- Hartl, D., & Clark, A. (2007). *Principles of population genetics* (4th ed.). Sunderland, Massachusetts.
- Helmuth, B. S. T., & Hofmann, G. E. (2001). Microhabitats , Thermal Heterogeneity , and Patterns of Physiological Stress in the Rocky Intertidal Zone. *The Biological Bulletin*, (September), 374–384.
- Hilbish, J., Carson, E., Plane, J., Weber, L., & Gilg, M. (2002). Distribution of *Mytilus edulis* , *M . galloprovincialis* , and their hybrids in open-coast populations of mussels in southwestern England. *Marine Biology*, 140(1), 137–142. <http://doi.org/10.1007/s002270100631>
- Huey, R. B., Carlson, M., Crozier, L., Frazier, M., Hamilton, H., Harley, C., ... Kingsolver, J. G. (2002). Plants Versus Animals: Do They Deal with Stress in Different Ways ? *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 415–423.
- Kido, J. S., & Murray, S. N. (2003). Variation in owl limpet *Lottia gigantea* population structures , growth rates , and gonadal production on southern California rocky shores. *Marine Ecology Progress Series*, 257, 111–124.

- Kristof, A., L. de Olivera, A., Kolbin, K., & Wanninger, A. (2016). A putative species complex in the Sea of Japan revealed by DNA sequence data : a study on *Lottia* cf . *kogamogai* (Gastropoda : Patellogastropoda), 54(November 2015), 177–181. <http://doi.org/10.1111/jzs.12120>
- Kultz, D. (2003). Evolution of the cellular stress proteome: from monophyletic origin to ubiquitous function. *Journal of Experimental Biology*, 206(18), 3119–3124. <http://doi.org/10.1242/jeb.00549>
- Landers, J. (2014). 2014 California Intertidal Ecology Survey Final Discussion and Conclusions, 42.
- Licona-Chávez, a., Correa-Sandoval, F., de la Rosa-Vélez, J., & Camarena-Rosales, F. (2007). Análisis genético y morfométrico de *Chione californiensis* y *C. subimbricata* (Bivalvia: Veneridae) del Pacífico oriental mexicano y el Golfo de California. *Ciencias Marinas*, 33(2), 149–171.
- Lockwood, B. L., & Somero, G. N. (2012). Functional Determinants of Temperature Adaptation in Enzymes of Cold- versus Warm-Adapted Mussels (Genus *Mytilus*), 29(10), 3061–3070. <http://doi.org/10.1093/molbev/mss111>
- Miller, L. P., Harley, C. D. G., & Denny, M. W. (2009). The role of temperature and desiccation stress in limiting the local-scale distribution of the owl limpet, *Lottia gigantea*. *Functional Ecology*, 23(4), 756–767. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01567.x>
- Mitchell, S. (2011). *Lottia gigantea* size and density differences in rocky intertidal communities near Monterrey Bay, California. California State University Monterey Bay.

- Murphy, R.W, f SanchR.L Aalbuez, G. . P. and. (2002). New measurements of area and distance for islands in the Sea of Cortes. *Oxford University Press*, 447–464.
- Nakano, T., & Spencer, H. G. (2007). Simultaneous polyphenism and cryptic species in an intertidal limpet from New Zealand, 45, 470–479.
<http://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.07.020>
- Nei, & Masatoshi. (1978). ESTIMATION OF AVERAGE HETEROZYGOSITY AND, 583–590.
- Peter W. Hochachka, G. N. S. (2002). *Biochemical adaptation: mechanisms and process in physiological evolution*. (O. UP, Ed.).
- Plaganyi, E., & Branch, G. M. (2000). Does the limpet *Patella cochlear* fertilize its own algal garden ? *Marine Ecology Progress Series*, 194(1988), 113–122.
- Raymond, M. (1995). Notas de Genepop.
- Ridgway, T. M., Stewart, B. a, Branch, G. M., & Hodgson A.N. (1998). Morphological and genetic differentiation of *Patella granularis* (Gastropoda: Patellidae): recognition of two sibling species along the coast of southern Africa. *Journal of Zoology, London*, 245(3), 317–333. <http://doi.org/10.1017/S0952836998007109>
- Roopnarine, P. D. (2009). A RE-EVALUATION OF EVOLUTIONARY STASIS BETWEEN THE BIVALVE SPECIES *CHIONE EROSA* AND *CHIONE CANCELLATA* (BIVALVIA : VENERIDAE), 69(2), 280–287.
- Rousset, F. (2015). Genepop 4.4, 1–54. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Santamaria-del-Angel, E., Gonzales-Silvera, A., Millan-Nunez, R., Callejas-Jimenez, E., & Cajal-Medrano, R. (2008). Case Study 19 Determining Dynamic Biogeographic

Regions using Remote Sensing Data, 273–293.

Santamaria del Angel, E. (1994). Santamaría del Angel, E.M. 1994. El color de las aguas del Golfo de California registrado por el czcs: relaciones de la biomasa fitoplanctonica y los procesos físicos de mezcla. Ph.D. Disertación. Universidad Autónoma de Baja California. Usando las image, 1994.

Sokal RR, R. F. (1995). *Biometry. 3rd ed.* (W. Freeman, Ed.) (3th ed.).

Stillman, J. H., & Somero, G. N. (1996). Adaptation to temperature stress and aerial exposure in congeneric species of intertidal porcelain crabs (genus *petrolisthes*): correlation of physiology , biochemistry and morphology with vertical distribution. *The Journal of Experimental Biology*, 1855, 1845–1855.

Swofford, D. L., & Selander, R. B. (1981). systematics, (August), 281–283.

Tripp, M., Hernandez, P., Gracia de leon, F., & Lluch, D. (2009). *ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DEL DORADO (Coryphaena hippurus; LINNAEUS, 1758) EN EL NOROESTE DEL PACÍFICO MEXICANO Y GOLFO DE CALIFORNIA MEDIANTE EL USO DE MICROSATÉLITES*. T. Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste.

TSchroeder, S. L., Roy, B. B., Shanks, A., & Linton, R. (2011). *The behavioral ecology and territoriality of the owl limpet Lottia gigantea. The behavioral ecology and territoriality of the owl limpet, Lottia giganteae*. University of Oregon.

Valdez-holguín, T. L. E. J. E. (2007). VARIABILIDAD INTERANUAL DE CLOROFILA EN EL GOLFO DE CALIFORNIA GULF OF CALIFORNIA INTERANUAL CHLOROPHYLL VARIABILITY, 6.

- Weber, L. I., & Hawkins, S. J. (2005). *Patella aspera* and *P. ulyssiponensis*: Genetic evidence of speciation in the North-east Atlantic. *Marine Biology*, 147(1), 153–162. <http://doi.org/10.1007/s00227-004-1540-2>
- Williams, E. E., & Somero, G. N. (1996). Seasonal-, tidal-cycle- and microhabitat-related variation in membrane order of phospholipid vesicles from gills of the intertidal mussel *Mytilus californianus*. *Journal of Experimental Biology*, 1596, 1587–1596.
- Wright, W. G., & Lindberg, D. R. (1982). Direct Observation of Sex Change in the Patellacean Limpet *Lottia Gigantea*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 62(October 1979), 737–738.
- Yu, S., Wang, J., Wang, Q., Huang, X., & Dong, Y. (2014). DNA barcoding and phylogeographic analysis of *Nipponacmea* limpets (Gastropoda: Lottiidae) in China Shan-Shan, (June), 420–429. <http://doi.org/10.1093/mollus/eyu034>

ANEXO

Anexo 1. Esquema de sembrado realizado para las muestras en la electroforesis

IA

Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Población	PN		SA		PP		PM		PN	
Organismo	7	8	7	8	7	8	7	8	11	12

IB

Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Población	SA		PP		PM		PN		SA	
Organismo	11	12	11	12	11	12	13	14	13	14

IIA

Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Población	PP		PM		PN		SA		PP	
Organismo	13	14	13	14	15	16	15	16	15	16

IIB

Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
población	PP		SA		PM		SA		PP	
Organismo	21	22	21	22	21	22	23	24	23	24

IIIA

Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
población	PM		SA		PP		PM		SA	
Organismo	23	24	25	26	25	26	25	26	27	28

IIIB											
Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Población	PP		PM		SA		PM		SA		
Organismo	27		27	28	29	30	29	30	31	32	

IV A											
Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Población	PM		SA		PM		SA		PM		
Organismo	31	32	33	34	33	34	35	36	35	36	

IVB											
Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
población	PM		PM		PM		PM		PM		
Organismo	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	

VA											
Carril	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Poblacion	PM		PM		PM						
Organismo	47	48	49	50	51						

ANEXO 4. Estadísticos F de Wright

Sewall Wright (1951) introdujo un método para partir el coeficiente de endogamia en una población subdividida (F_{it}) entre el componente debido a apareamientos no-aleatorios dentro de poblaciones (F_{is}) y a la subdivisión entre poblaciones (F_{st}). Así, la endogamia total tendría un componente generado por la cruce entre parientes dentro de una población (F_{is}) y otro por el balance entre la deriva génica y el flujo génico (F_{st}). La definición original de Wright se basa en el coeficiente de endogamia. Así, los estadísticos F pueden ser vistos como la correlación entre genes homólogos tomados de un nivel de la subdivisión, en relación con cualquier otro nivel superior. La correlación entre los genes dentro de los individuos (I) en relación con los genes de la población total (T) es representada por F_{it} , que corresponde con la endogamia total. La correlación entre genes dentro de los individuos en relación con los de la subpoblación (S) es representada por F_{is} , mientras que la correlación entre los genes dentro de la subpoblación en relación con los de la población total está representada por F_{st} , que es igual a la probabilidad de que dos alelos idénticos por descendencia (identical by descent, provenientes de una población ancestral) se combinen en un cigoto.

Los estadísticos F se relacionan entre sí de la siguiente manera:

$$1 - F_{it} = (1 - F_{st}) (1 - F_{is})$$

y por lo tanto

$$F_{st} = (F_{it} - F_{is}) / (1 - F_{is}).$$

La estimación de la F_{st} es más fácil de visualizar siguiendo la definición de Nei (1973):

$$F_{st} = (H_t - H_s) / H_t$$

donde H_t es el promedio de la heterocigosis esperada en la población total, para todos los loci y H_s es el promedio de la heterocigosis esperada dentro de subpoblaciones para todos los loci. F_{st} mide la reducción en la heterocigosis debida a diferenciación genética entre poblaciones. También se puede definir la F_{st} en términos de las varianzas en las frecuencias alélicas entre las poblaciones, lo cual puede ser más intuitivo:

$$F_{st} = \text{Var}(p) / (p(1-p))$$

entre mayor haya sido la deriva génica, mayor será la varianza (las diferencias entre) las frecuencias alélicas entre poblaciones.

Adicionalmente, es importante mencionar que en la literatura existen variantes en la estimación de la F_{st} . La F_{st} tiene varias características que la han hecho atractiva para los biólogos evolutivos. En primer lugar, su interpretación es relativamente sencilla:

Si la $F_{st} = 0$, indica que las frecuencia alélicas son idénticas en todas las poblaciones estudiadas, o sea que aún no ha habido nada de diferenciación entre ellas (i.e., $H_t = H_s$). El máximo posible en la F_{st} es de 1, al que se llega cuando cada

población esta fija en alelos diferentes (i.e., $H_s=0$), o sea que son completamente diferentes las frecuencias alélicas de las poblaciones que estudiamos. Otra ventaja de la F_{st} es que, como ya mencionamos, a partir de la ella se puede obtener una aproximación de N_m si se ha llegado al equilibrio entre los procesos de la deriva génica y la migración.

ANEXO 5. Cadena de Markov

Una cadena de Markov es una sucesión de ensayos similares u observaciones en la cual cada ensayo tiene el mismo número finito de resultados posibles y en donde la probabilidad de cada resultado para un ensayo dado depende sólo del resultado del ensayo inmediatamente precedente y no de cualquier resultado previo, conocido como hipótesis nula.

Consideremos un proceso de Markov en que el sistema posee n estados posibles, dados por los números 1, 2, 3, ..., n . Denotemos p_{ij} a la probabilidad de que el sistema pase al estado j después de cualquier ensayo en donde su estado era i antes del ensayo. Los números p_{ij} se denominan probabilidades de transición y la matriz $n \times n$:

$$P = (p_{ij})$$

se conoce como matriz de transición del sistema.

La suma:

$$p_{i1} + p_{i2} + \dots + p_{in} = 1.$$

Representa la probabilidad de que el sistema pase a uno de los estados 1, 2, ..., n dado que empieza en el estado i. Ya que el sistema ha de estar en uno de estos n estados, la suma de probabilidades debe ser igual a 1. Esto significa que los elementos en cualquier renglón de la matriz de transición deben sumar 1.

Siempre que pienses que no puedes más ve al cielo.

Cuando sientas que estás por caer, abrázate.

Cuando te falte amor, dáselo a tu mismo.

Cuando te sientas solo, respira y piensa en aquel ángel que siempre te acompañara.

Tú eres la persona más especial del mundo y lograste terminar aquello que habías empezado.

Ponte orgullosa de ti. Lograste a demostrar lo que puedes lograr.