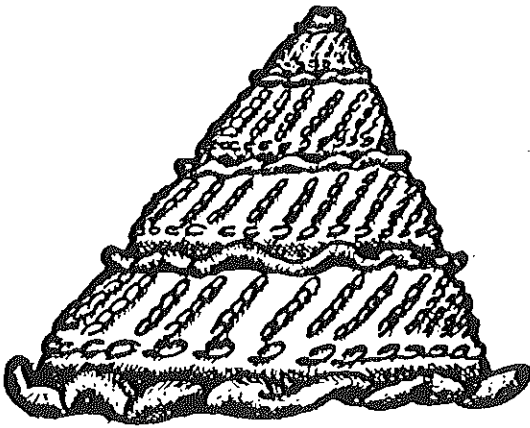


**UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**



**ESTUDIO ELECTROFORETICO DE LA POBLACION
COMERCIAL DEL CARACOL (Astrea undosa)
DEL ROSARIO, B.C., MEXICO**



TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
OCEANOLOGO
PRESENTA
GUILLEMO ALBERTO URBINA SANCHEZ

ENSENADA, B.C. MAYO 1990.

ESTE TRABAJO FUE FINANCIADO EN PARTE POR LA
SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA MEDIANTE LOS
CONVENIOS DGICSA-SEP (CB7-01-0136) Y (BB-01-0077)

INDICE.

	Páginas
I INTRODUCCION.....	1.
II OBJETIVO.....	8.
III AREA DE ESTUDIO.....	9.
IV MATERIAL Y METODO.....	11.
IV.1 Procesamiento de material biológico.....	11.
IV.2 Procesamiento electroforético.....	13.
IV.3 Manejo estadístico.....	17.
V RESULTADOS.....	20.
VI DISCUSION.....	25.
VII CONCLUSIONES.....	32.
VIII RECOMENDACIONES.....	33.
IX LITERATURA CITADA.....	34.
X ANEXOS.....	37.

INDICE DE FIGURAS.

	Páginas
Figura. 1.- Area de colecta.....	10.
Figura. 2.- Morfología del caracol <i>Astraea undosa</i> .	12.
Figura. 3.- Celda y charola electroforética.....	15.
Figura. 4.- Detalles de la celda electroforética..	16.

INDICE DE TABLAS.

Tabla I.- Frecuencias alélicas (f) de 15 loci ensayados en el demo de *Astraea undosa* del Rosario, B.C., México (N número de genes analizados)..... 21

Tabla II.- Heterocigosis de los cinco loci polimórficos en la población del Rosario, B.C., México. Datos obtenidos al aplicar la prueba de bondad de ajuste de " χ^2 " con $G.1 = (G-A)$ (N es el número de genes, G = genotipos, A= Alelos, f= frecuencia, Ho= Heterocigosis observada, He= Heterocigosis esperada y P= probabilidad)..... 22

Tabla III.- Correlaciones entre el diámetro mayor de la base por grupo de edad y heterocigosis por individuo, para el caracol *Astraea undosa* del Rosario, B.C., México..... 24

Tabla IV.- Valores de variación genética para invertebrados y diversos demos de *Astraea undosa*..... 26

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que de una u otra forma han tomado parte en mi formación profesional y personal.

Dr. Jorge de la Rosa Vélez. Por el afecto, comprensión, respeto y la amistad que me otorgó durante este trabajo y siempre nos ha demostrado.

M.C. Guillermo Torres Moya
M.C. Eduardo Santamaria del Angel
M.C. Guillermo Villarreal Chavez.
Oc. Eliseo Almanza Heredia
Oc. Antonio Eliseo Almanza Heredia.
M.C. Elizabeth Orellana Cepeda.
M.C. Rene Pinet Plasencia.
Oc. Juan Antonio Fernandez Apango.
Oc. Roberto Escobar Fernández.

A todos ellos por sus consejos, ideas, sugerencias, y ayuda en material bibliográfico y de todo tipo.

A mis padres por todo el amor que me han demostrado, la comprensión, y el apoyo incondicional que siempre me han brindado, por los principios y las enseñanzas que me han servido para llegar a este momento.

A la Señorita Alicia E. Acosta Jimeno, por su comprensión, cariño, compañía, apoyo incondicional, que durante los años de conocernos y para este trabajo me demostró.

A mis amigos:

Flavio Orta, Luis Carrillo, Mario Ramade, Jesus Nieblas, Julio Lujano, Raúl Zazueta, José Aguilar, Marc Cuéllar, Jose Natividad, Laura Mendoza, Alejandro Estradas (Lic), Araceli Suárez Vásquez, Juan A Fernández Apango. y a tantos que por una u otra razón mi memoria no los recuerda en este momento por sus nombres pero que siempre han demostrado el cariño y la amistad que con los años hemos ido formando.

A los compañeros del departamento de Informática de la U.A.B.C, que me han dado su apoyo y amistad en el tiempo que he permanecido con ellos laborando. Angélica, Martín, Hugo, Alfredo, Amalia, Javier.

Al ingeniero David Urzúa Beltrán por las facilidades prestadas para realizar este trabajo.

ESTUDIO ELECTROFORETICO DE LA POBLACION COMERCIAL DEL

CARACOL *Astraea undosa* DEL ROSARIO, B.C., MEXICO

T E S I S

QUE PRESENTA:

GUILLERMO ALBERTO URBINA SANCHEZ.

APROBADA:

Dr. JORGE DE LA ROSA VELEZ
Presidente.

M.C Guillermo Torres Moye.
Propietario.

Dr. José A. E. Almanza Heredia.
Propietario.

Dr. Roberto Escobar Fernández.
Suplente.

Dr. Juan A. Fernández Apango.
Suplente.

R E S U M E N

El estudio de los niveles de variabilidad genética del demo del caracol *Astraea undosa* del Rosario, B.C., México, se llevó a cabo por medio del análisis electroforético en gel de almidón de 9 sistemas enzimáticos que revelaron 16 loci génicos. Se obtuvo un polimorfismo del 33%, una heterocigosis observada por locus de 0.168. La heterocigosis calculada fue de 0.155, y se encontró que la población se presenta dentro del equilibrio de Hardy-Weingberg (H-W). Es una población explotada, genéticamente sana. Se probó la hipótesis de mayor talla, mayor heterocigosis individual por grupo de edad sin obtener valores significativos, para la muestra analizada.

I INTRODUCCION

Para poder tener un mejor aprovechamiento de los recursos marinos, ya sea por medio de su pesquería o de cultivo, es necesario conocer sus aspectos biológicos más importantes, entre los que se encuentra su genética (Newkirk, 1980).

Los estudios de variabilidad genética en poblaciones naturales han aportado información valiosa acerca de los procesos evolutivos que intervienen en la adaptación de las especies a los ambientes que habitan (Valentine, 1980).

La aplicación de nuevas metodologías en la investigación genética, como la genética bioquímica, a pesar de haber demostrado su valía en la resolución de problemas de interés inmediato en el desarrollo de pesquerías y cultivos acuícolas (Hedgecock *et al.*, 1976), no ha sido utilizada en nuestro país para la caracterización de poblaciones de recursos de importancia económica.

Los primeros trabajos realizados con el método de electroforesis para analizar la variación genética en poblaciones naturales, se realizaron en la década de los sesentas (Lewontin y Hubby, 1966). Esta metodología ha sido aplicada ampliamente a todos los niveles de la escala biológica y ha establecido claramente que la variación

genética es considerable en las poblaciones naturales (Lewontin, 1974).

Tracey *et al.*, (1975) realizaron trabajos de genética y morfología en poblaciones de la langosta *Homarus americanus* de la costa Atlántica. El área de estudio comprendió dos grandes regiones, las de mar abierto y las de zona costera. La variabilidad genética de *Homarus americanus* fue estudiada en 44 loci por medio de electroforesis de gel de almidón. El promedio de heterocigosis por locus fue de 3.8%. La variabilidad genética fue concentrada en sólo 8 loci de los cuales 5 tuvieron una proporción de heterocigosis mayor al 20 %. Entre poblaciones las diferencias fueron pequeñas; la diferenciación máxima se encontró sólo en el locus de la enzima málica (Me).

Buroker (1983) trabajó con el ostión *Crassostrea virginica* de la Costa Atlántica. Las poblaciones estudiadas se distribuyen desde Cape Cod, Massachusetts, hasta Brownsville, Texas. Se estimó la variación genética y similitud entre poblaciones con base en 32 loci estructurales. El porcentaje de polimorfismo a lo largo de la costa Atlántica fue estimado entre 46.9% y 65.6%; a lo largo de la costa norte del Golfo de México, los valores fueron entre 54.8% y 68.8% y la heterocigosis media en la costa Atlántica fue de 18.6% a 23.6%, mientras que en el Golfo de México varió de 20.0% a 25.4%. Se encontró que existe una similitud genética entre

poblaciones del 99%. La única diferencia notable se encontró entre las poblaciones de Corpus Christi y Brownsville, Texas respecto a las demás, donde el valor de similitud fue del 93%, lo que indicó una transición a juicio de las condiciones ambientales particulares de la laguna Madre.

Rosa-Vélez (1986) analizó 10 sistemas enzimáticos y proteína total del músculo aductor de *Crassostrea virginica*. Estudió 8 poblaciones tropicales del Golfo de México. El polimorfismo proteínico fue de $43.2 \pm 2.6\%$ y la heterocigosis media fue de $17.4 \pm 4\%$. Entre éstas, las poblaciones de Laguna de Términos, Laguna Mecoaacán, Laguna Tamiahua y Laguna de Pueblo Viejo presentaron deficiencia de heterocigotos con respecto a lo esperado, según el equilibrio de Hardy-Weinberg; el sistema lagunar Carmen y Machona y la Laguna Sontecomapan están en equilibrio y la Laguna Madre presentó exceso de heterocigotos.

Según el mismo criterio, estos resultados parecen estar relacionados con la presión selectiva ejercida por las características ambientales, propias del medio tropical, los fenómenos climáticos e hidrológicos locales y oceanográficos que han experimentado las poblaciones recientemente, así como la presión de captura que soporta cada población.

Suárez-Vásquez (1989) analizó 14 sistemas enzimáticos de *Astraea undosa* de Bahía Todos Santos, Baja California, México, para obtener un método de análisis

de esta especie. En los loci estudiados encontró un polimorfismo de 40% y un intervalo de heterocigosis por locus de 0.029 a 0.629. Cita procesos de selección, migración y endogamia como posibles causas de la deficiencia en la heterocigosis.

Mendoza-Aguirre (1989) realizó un estudio electroforético comparativo de dos demos de *Astraea undosa* en la Bahía Todos Santos, Baja California, México. Encontró una alta similitud genética (99%) entre las poblaciones, aunque una notoria diferencia en los niveles de variación genética. Propone la compartición del reservorio genético, pero distinta expresión genotípica de éste, en función de las estrategias adaptativas diferentes en hábitats diferentes.

Romero-Romero (1989) estudió al caracol *Astraea undosa* de Bahía Tortugas en Baja California Sur, México, y encontró que el polimorfismo protéinico fue del 45.4%, y la heterocigosis del 20.8% + 2.5 con una alta similitud genética con la población norteffa de la Bahía de Todos Santos. Esta similitud fue del 96%, lo que indica que no han cambiado mucho su estructura genética desde que éstas derivaron de la población ancestral común.

Algunos grupos de invertebrados marinos son altamente polimórficos, pero las estimaciones de heterocigosis para varias especies del caracol marino *Nerita sp* son bajas, (menores a 0.06) (Tracey *et al.*, 1975; Selander, 1980). Por otro lado Haley y Newkirk

(1977) y Singh y Green (1984) han demostrado que existe una diferencia en estructura genética en la población, dependiente del nivel de desarrollo. A su vez, el desarrollo posee una base genética que determina la tasa de crecimiento, la capacidad de alcanzar una talla determinada y el índice de mortalidad. Los organismos heterocigotos en mayor proporción son los que más viables y alcanzar las mayores tallas de manera más eficiente. Dichos estudios fueron realizados fundamentalmente en pelecipodos. No obstante, no existen reportes de este fenómeno para otros grupos de moluscos.

En las costas de Baja California, en el Pacífico Nor-Occidental existen una gran variedad de recursos marinos susceptibles a explotación. Entre ellos, tenemos al caracol *Astraea undosa*, que es un gasterópodo con gran potencial pesquero (Baqueiro *et al.*, 1982).

El presente trabajo forma parte de un trabajo integral para el conocimiento de los aspectos biológicos fundamentales del organismo *Astraea undosa*, con el fin de fundamentar las estrategias de utilización más adecuadas para la especie. El conocimiento de la variabilidad genética nos permitirá inferir el grado de adaptabilidad que presenta el organismo en el ambiente que habita y, al ser objeto de una pesquería, qué efectos puede provocar ésta actividad sobre el recurso.

Astraea undosa es un molusco que pertenece a la clase Gasterópoda y a la familia Trochacea, de concha calcárea,

cónica alta, en espiral, la cual se considera dextrógira del opérculo a la columnela. En la última espiral se encuentra el cuerpo del organismo, presenta orillas ondulantes bien definidas en toda la superficie de la concha. La base de la concha es plana con líneas conspicuas, su periostraco es café y fibroso. El opérculo presenta núcleos laterales y aristas dentadas y fuertes. Llega a medir hasta 110 mm, tanto de diámetro mayor de la base como en su altura máxima (Morris, 1983). Es un organismo dióico; la única gónada, ya sea ovario o testículo, se localiza en la masa visceral, embebida en la glándula digestiva y ocupa gran parte de las espirales superiores del organismo. Presenta una sola branquia bipectinada al igual que un solo nefridio donde desemboca la gónada (Barnes, 1984).

A. undosa es un organismo ovíparo de fecundación externa con estadios larvales característicos de los moluscos (trocófora, véliger y pedivéliger); presenta desoves masivos en una época del año, por lo menos en la población de la Bahía de Todos Santos, B. C. (Rosa-Velez et al., 1987).

A. undosa es considerado un herbívoro oportunista con ausencia de preferencia alimenticia diferencial por sexos. Esto es congruente con la distribución y composición de las poblaciones que presentan una proporción equivalente de sexos sin presentar una segregación de los mismos (Aguilar-Rosas et al., 1990).

A. undosa experimenta cambios ontogénicos en la capacidad de alimentarse de microalgas o macroalgas de manera similar a los abulones del género *Haliotis* (Leighton y Booloatian, 1963; citado por Aguilar-Rosas et al., 1990). Los organismos juveniles se alimentan principalmente de microalgas, diversificando en el estado adulto su espectro alimenticio, al incluir macroalgas. Presenta preferencia por *Macrosystis pyriferá*, pero si no se encuentra a su alcance este recurso puede aprovechar otras fuentes de alimento macroalgal. a si como materia organica esto se ha encontrado en los análisis de contenido estomacal realizados para esta especie (Aguilar-Rosas et al., 1990).

La especie se distribuye desde Punta Concepción, California, E.U.A., hasta Punta Abreojos, Baja California Sur, México (Morris, 1983).

II OBJETIVO

Determinar la variabilidad genética de la población del caracol *Astraea undosa* en el Rosario, Baja California, México, y poner a prueba la hipótesis de mayor talla por edad, a mayor variabilidad genética individual.

III AREA DE ESTUDIO

La Bahía del Rosario se encuentra localizada en la parte central de la costa occidental del estado de Baja California, entre los 29°45'15'' y 29°56'45'' de latitud norte y los 115°49'15'' y 115°42'15'' de longitud oeste. Punta Baja y Punta San Antonio constituyen los límites de esta bahía (Fig. 1). En esta zona, el sustrato está constituido principalmente por rocas ígneas intrusivas y sedimentarias de forma aplanada o semiesférica con un diámetro menor a 1 m. Esta zona contiene un gran potencial pesquero: podemos encontrar abulón, langosta, erizo y extensos mantos de *Macrocystis pyrifera* (Searcy-Bernal, 1986).

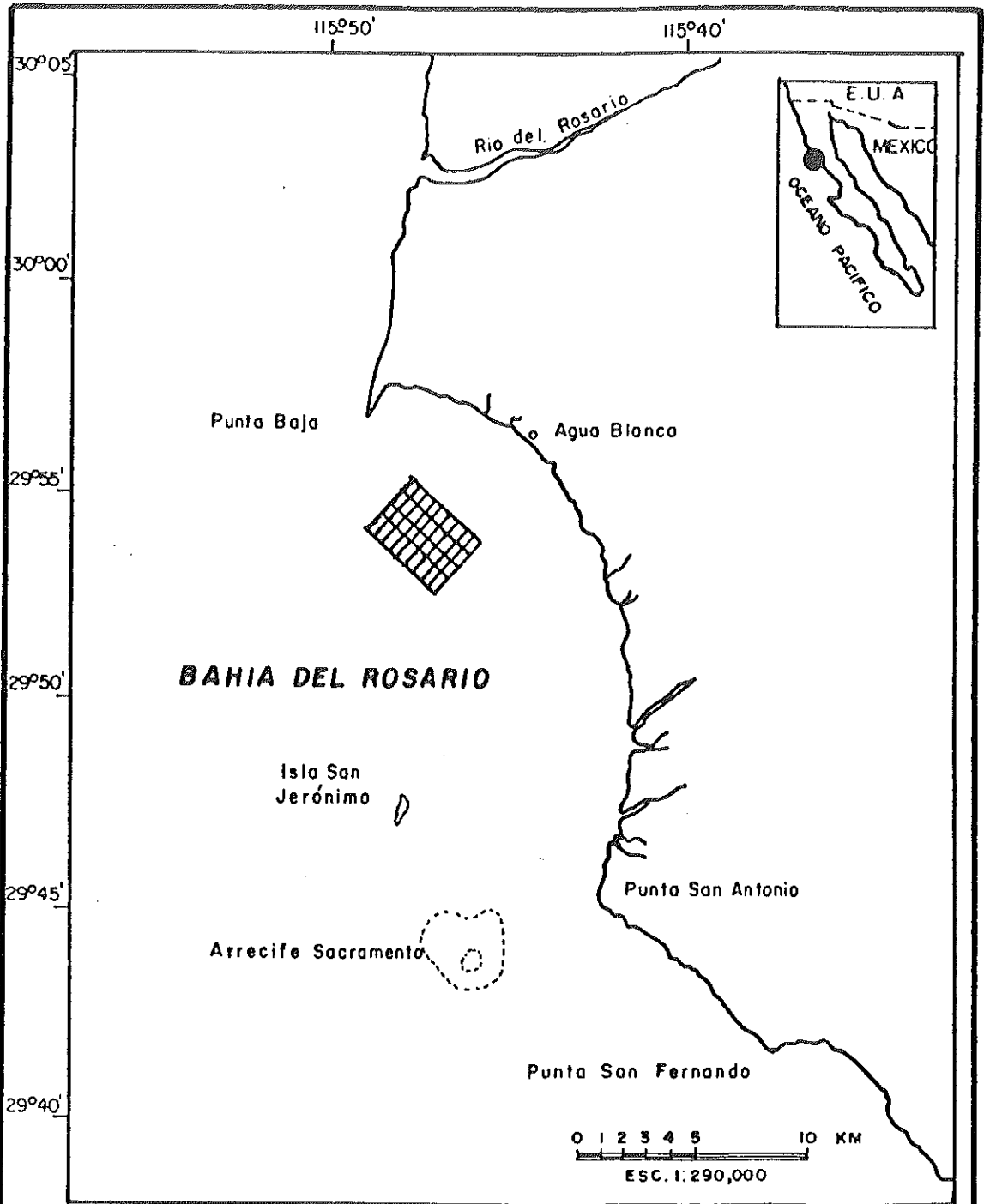


Fig.1 LOCALIZACION DEL AREA DE COLECTA.

IV MATERIAL Y METODO

IV.1 Procesamiento de material biológico.

Los organismos, en un número de 120, se recolectaron por medio de buceo autónomo, en fondo rocoso, a una profundidad de 6 a 10 metros, enfrente de la Bahía del Rosario, B.C. (Fig. 1). Los especímenes se transportaron vivos al laboratorio, en donde se les colocó en acuarios y se les alimentó con macroalgas, hasta su sacrificio.

A cada organismo se le tomaron las siguientes medidas: altura y diámetro mayor de la concha (Fig. 2), por medio de un vernier Mitutoyo con una precisión de ± 0.2 mm. Posteriormente se desconcharon y se tomaron los siguientes datos complementarios: el peso sin opérculo, que se obtuvo mediante una balanza digital Metler FM 400; el sexo, que se identificó por la diferenciación de la coloración de la gónada (blanco para machos (M) y verde olivo para las hembras (F)); y la madurez sexual, medida según una escala subjetiva (Rosa-Vélez *et al.*, 1987).

Se disecaron los tejidos a utilizar, los cuales fueron branquia y hepatopáncreas, según lo recomendado para la especie Suárez-Vásquez, (1989).

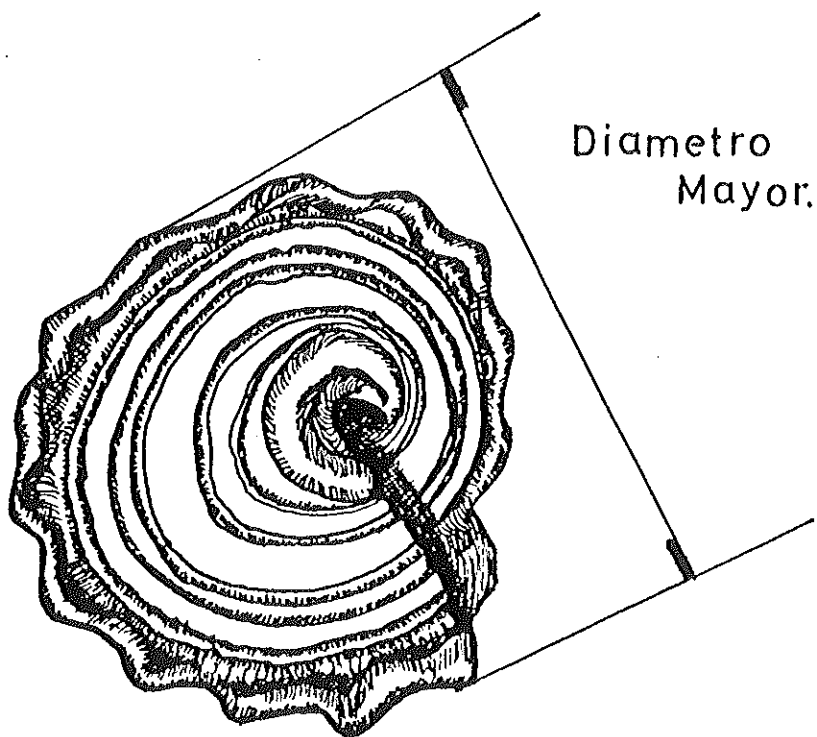
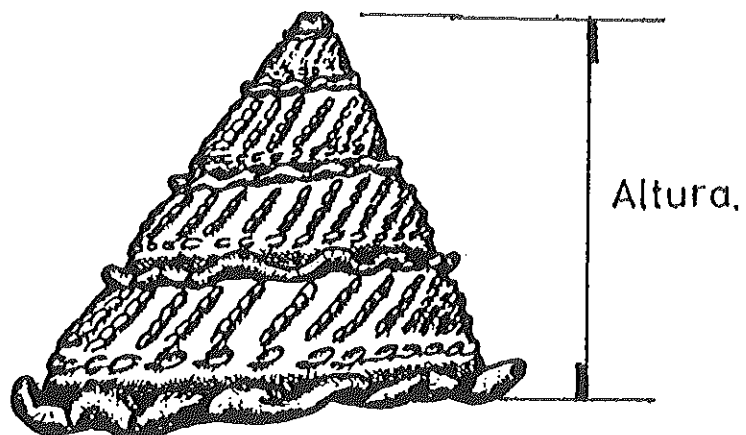


Fig.2 MORFOLOGIA DEL CARACOL.
Astraea undosa.

Ambos tejidos se lavaron perfectamente con agua destilada, para eliminar restos de otros tejidos que los contaminaran.

Los tejidos ya separados y perfectamente lavados se colocaron en morteros y se homogenizaron en 0.5 ml. de una solución de tris-HCl 0.1 M, pH 7.1, en baño de hielo para evitar al máximo el deterioro de la actividad enzimática. Se colocaron los tejidos en tubos etiquetados. Se centrifugaron por un tiempo de 10 a 20 minutos a 3,000 rpm en una centrifuga DAMON/IEC DIVISION MOD. HP1117. Se decantó el sobrenadante en tubos etiquetados y se guardaron en refrigeración a 4 ± 1 °C, hasta su procesamiento electroforético.

IV.2 Procesamiento electroforético.

La preparación del gel para realizar las electroforesis consistió en el pesado del almidón (Sigma) y su suspensión en el volumen adecuado de la solución amortiguadora indicada para alcanzar la concentración al 12% (P/V) (ANEXO IA) (Suárez-Vásquez, 1989).

Se calentó la solución a flama directa hasta obtener el descenso abrupto de la viscosidad, y su clarificación. Posteriormente se procedió a evacuar el aire contenido en el gel con una bomba General Electric Modelo 0211-V45N-68CX. El vacío se aplicó por un tiempo de

15 a 20 seg. Se vertió la solución de almidón en las charolas electroforéticas se cubrió con plástico autoadherible. Se dejó gelificar por un tiempo mínimo de 2 horas y máximo de 15 horas, antes de usarse.

Se practicó un corte a 5 cm del extremo catódico del gel donde se aplicaron las muestras utilizando mechas de papel Whatman # 3 de 1.0 cm X 0.5 cm, humedeciéndolas con cada una de las muestras y colocándose en la última mecha un indicador de corrimiento (azul de bromofenol al 0.002%).

Aplicadas las muestras, se colocó la charola en la celda electroforética (Figs. 3 y 4), poniendo el gel en contacto con la solución electrolítica por medio de dos mechas de Papel Whatman # 1 de 19 X 8 cm, aplicando distintos potenciales eléctricos en función del sistema amortiguador empleado (ANEXO IB). Para el revelado de las enzimas se utilizaron tinciones histoquímicas, según el método desarrollado por (Suárez-Vásquez, 1989) (ANEXO II).

Se ensayaron 9 sistemas proteínicos: aspartato amino transferasa (AAT), enzima mállica (EM), esterasa (EST), glutamato deshidrogenasa (GDH), isocitrato deshidrogenasa (IDH), lactato deshidrogenasa (LDH), leucín amino peptidasa (LAP), malato deshidrogenasa (MDH), y superóxido dismutasa (SOD). Los zimogramas se interpretaron según Ayala *et. al.* (1973).

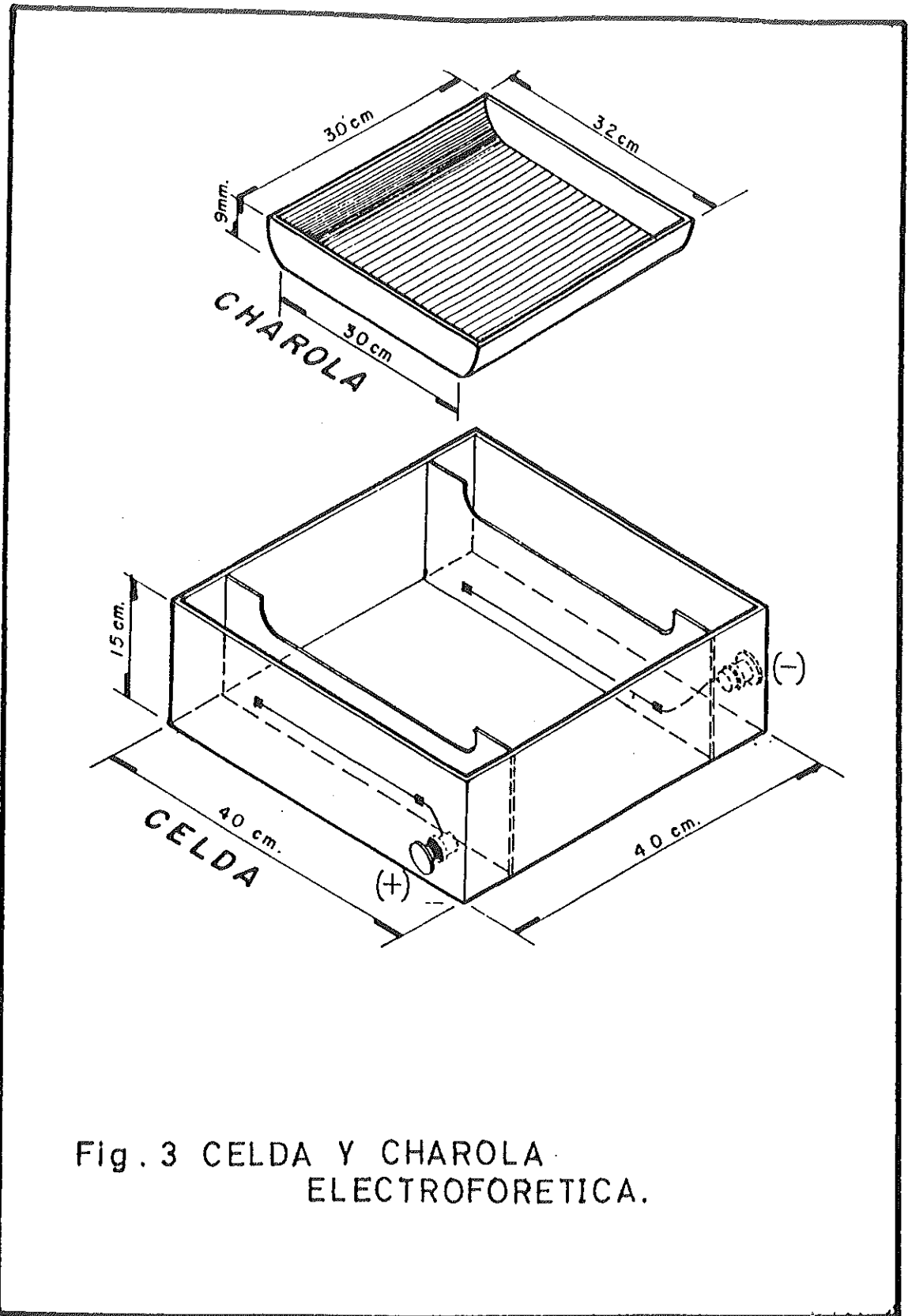


Fig. 3 CELDA Y CHAROLA
ELECTROFORETICA.

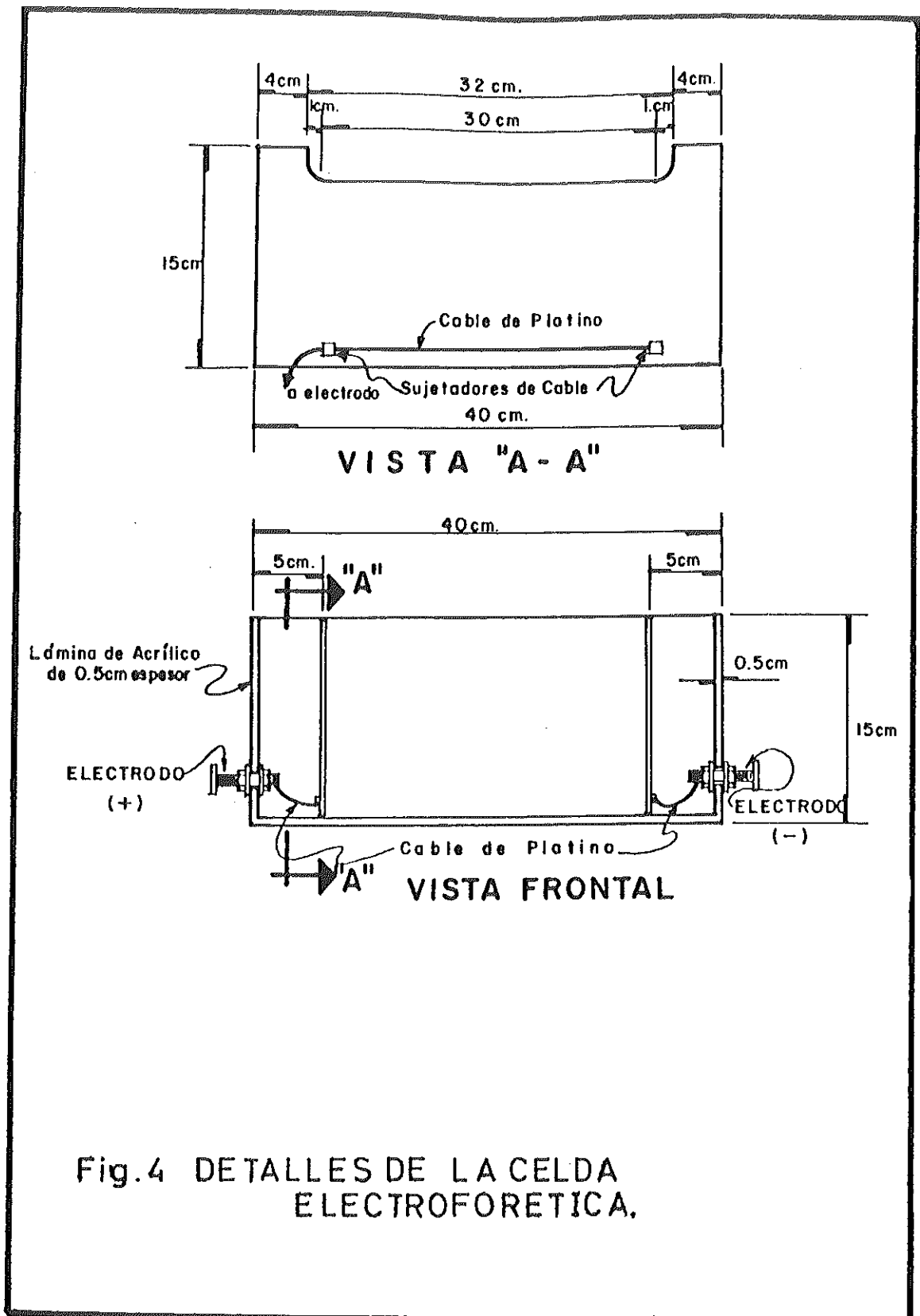


Fig.4 DETALLES DE LA CELDA ELECTROFORETICA.

IV.3 Manejo estadístico.

Las frecuencias alélicas (f) en los loci polimórficos se obtuvieron de conteos realizados en los zimogramas obtenidos en el corrimiento electroforético. Se utilizó la relación.

$$f = \frac{\text{Número de alelos.}}{\text{Número de genes totales analizados.}}$$

En el presente estudio se utilizaron el polimorfismo, la heterocigosis observada y la heterocigosis calculada, como medidas de variabilidad genética.

Para estimar el polimorfismo se usó el criterio del alelo más común con frecuencia $P \leq 0.95$, y para calcular el porcentaje de loci polimórficos se utilizó la siguiente relación.

$$\text{Polimorfismo} = \frac{\text{Número de loci polimórficos observados.}}{\text{Número de loci totales observados.}}$$

La heterocigosis observada y calculada se obtuvieron de la siguiente forma:

$$H_{obs} = \frac{\text{Número de heterocigotos observados.}}{\text{Número de organismos analizados.}}$$

$$H_{exp} = 1 - \sum_{i=1}^{i=n} (f_{i,1})^2$$

Se consideraron alelos raros a los que presentaron una frecuencia menor al 10% (Ayala y Kiger, 1984); estos alelos se sumaron a los de movimiento electroforético más próximo y así se obtuvo un grupo de alelos con una frecuencia mayor, a los cuales fue factible aplicarles la prueba de bondad de ajuste " χ^2 ". Para decidir si cada locus polimórfico está en equilibrio de (H-W). Los grados de libertad (G.1) fueron calculados como (G-A) donde G = número de clases de genotipos y A = el número de alelos encontrados (Crow y Kimura, 1970; citado por Ayala y Kiger, 1984).

Se realizó la transformación propuesta por Buroker (1983) ($\arcsen(f)^{1/2}$) para normalizar las frecuencias génicas. Posteriormente a estos conjuntos de datos y a los parámetros biométricos peso, altura mayor y diámetro mayor de la base, se les aplicó una prueba de normalidad de Kolmogorof-Smirnlof (Kreyszing, 1973).

Para demostrar si existen diferencias significativas entre machos y hembras, respecto al parámetro de talla (diámetro mayor de la base), se utilizó una prueba de análisis de varianza de (Kruskal-Wallis), por contener tamaños de muestra distintos de machos y hembras (Siegel, 1986)

Se agruparon las tallas y se obtuvo la edad de cada organismo mediante la ecuación de crecimiento de Von Bertalanfy:

$$L_t = L_{(\infty)} (1 - e^{-k(t - t_0)})$$

$$t = \frac{\ln(1 - L_t/L_{(\infty)})}{-k} + t_0$$

Los valores de los parámetros de la ecuación ($L_{(\infty)}$, k y t_0) tanto para machos y hembras, fueron calculados por Torres-Moye et al., (trabajo en preparación) y se enlistan a continuación:

	machos	hembras
$L_{(\infty)}$	223.14 mm	251.43 mm
k	0.0610	0.0760
t_0	0.2970 años	0.4347 años.

Con esta agrupación se realizó una prueba de correlación para demostrar la existencia de una dependencia de la talla, (diámetro mayor de la base) por grupo de edad, respecto a la heterocigosis (Sokal y Rohlf, 1979).

V RESULTADOS

Del estudio electroforético realizado a la muestra del caracol *Astraea undosa* de la población comercial del Rosario, B. C., México. Se obtuvieron los siguientes resultados.

Se analizaron en promedio 102 ± 46 genes constituidos en 16 loci, de 9 sistemas enzimáticos obtenidos de 69 organismos. 11 de los loci fueron monomórficos (AAT-1, EM-1, GDH-1, LDH-1, LAP-1, LAP-2, MDH-1, SOD-1, SOD-2, SOD-3 y EST-4) y 5 fueron polimórficos (AAT-2, EST-1, EST-2, IDH-1, MDH-2) lo que representa un 33% de polimorfismo en la población.

Se calcularon las frecuencias alélicas para todos los loci (Tabla I) y aquellos que presentaron alelos raros, se agruparon de la siguiente forma: AAT-2¹⁰⁴ y AAT-2⁹⁶, bajo la asignación de AAT-2⁹⁶; EST-2⁹⁸, EST-2⁹⁶ y EST-2⁹² como EST-2⁹⁶; y por último IDH¹⁰⁸ e IDH⁹⁶, en IDH⁹⁶.

La heterocigosis observada fue 0.168 ± 0.084 y la heterocigosis esperada, 0.155 ± 0.10 (Tabla II).

La prueba de bondad de ajuste " χ^2 " para los loci polimórficos, indicó que los loci AAT-2, EST-2, EST-3, MDH-2 están en equilibrio según el principio de Hardy-Weingberg y que sólo IDH presenta una desviación significativa por deficiencia de heterocigotos ($P < 0.01$, Tabla II).

TABLA I.- Frecuencias alélicas (f) de 15 loci ensayados en el demo de *Astraea undosa* de Rosario, B.C., México (N es el número de genes estudiados)

LOCUS	ALELO	N	f
AAT-1	100	136	1.000
AAT-2	104		0.215
	100		0.630
	96	130	0.153
EM-1	100	44	1.000
EST-2	100		0.433
	98		0.166
	96		0.133
	92	30	0.266
EST-3	103		0.562
	100	16	0.437
EST-4	100	138	1.000
GDH-1	100	44	1.000
IDH	105		0.156
	100		0.634
	90	134	0.208
LDH	100	92	1.000
LAP-1	100	138	1.000
LAP-2	100	138	1.000
MDH-1	100	44	1.000
MDH-2	100		0.666
	95	132	0.333
SOD-1	100	138	1.000
SOD-2	100	138	1.000
SOD-3	100	138	1.000

Número de genes analizados
Polimorfismo

102±46
33%

TABLA II.- Heterocigosis de los cinco loci polimórficos en la población de *Astraea undosa* del Rosario, B.C., México. Datos obtenidos al aplicar la prueba de bondad de ajuste de "Ji²" con G.l= (G-A) (N es número de genes, G= genotipos, A= alelos f= frecuencia, Ho= heterocigosis observada, He = heterocigosis esperada y P= probabilidad).

LOCUS	ALELO	N	f	Ho	He	G.l	Ji ²	
AAT-2	104		0.215					
	100		0.630					
	96	130	0.153	0.461	0.555	1	1.93	P>0.05
	100		0.433					
EST-2	98		0.166					
	96		0.133					
	92	30	0.266	0.400	0.695	1	0.10	P>0.05
EST-3	103		0.562					
	100	16	0.437	0.625	0.492	1	1.27	P>0.05
IDH	105		0.156					
	100		0.634					
	90	134	0.208	0.343	0.529	1	8.28	P<0.01
MDH-2	100		0.666					
	95	132	0.333	0.575	0.444	1	2.33	P>0.05

Ho 0.168 ± 0 .084 He 0.155 ± 0.10

El diámetro mayor de la base y $\text{arc sen } (f)^{1/2}$, presentaron un comportamiento normal, con un alfa del 99%, ($P < 0.01$).

Se encontraron seis grupos de edad comprendidos entre 4 y 9 años, de las cuales las edades de 4 y 9 sólo están representadas por dos organismos cada una, por lo tanto no se pueden realizar correlaciones. Para las edades 5, 6, 7 y 8 los coeficientes de correlación fueron bajos (0.27, 0.21, 0.32 y -0.061 , no significativo con $P < 0.01$) (tabla III).

Tabla III.- Correlaciones entre el diámetro mayor de la base por grupo de edad y heterocigosis por individuo para el caracol *Astraea undosa* de la población del Rosario, B.C., México.

EDAD	Talla media	R	g.l	Decisión
4	---	---	---	---
5	73.09	0.32349	11	n.s
6	80.44	0.2766	25	n.s
7	90.23	0.2145	18	n.s
8	99.45	-0.61574	4	n.s
9	---	---	---	---

n.s. no significativo

--- Datos insuficientes

VII DISCUSION.

La variabilidad genética se puede expresar comúnmente de dos formas: como el polimorfismo y como la heterocigosis. Estas medidas de variación pueden expresar las estrategias que presenta el organismo respecto a la adaptación a su ambiente. En la población del caracol *Astraea undosa* del Rosario, B.C., se encontraron niveles de polimorfismo del 33% y heterocigosis del 16.8 ± 0.84 que al ser comparadas con las encontradas en otras poblaciones de este caracol reportadas por otros autores (tabla IV) se puede observar que el polimorfismo proteínico de este demo es el más bajo, y la heterocigosis que se presenta es de las más altas entre los demos analizados para esta especie. Esto se atribuye a que entre los dos parámetros que se utilizaron para medir la variabilidad, existen diferencias en su representabilidad. La heterocigosis toma en cuenta las frecuencias de los individuos para los loci analizados y considera el peso que tiene cada uno de ellos sobre la variabilidad global; el polimorfismo se basa en criterios que establece el investigador en forma arbitraria, y da a todos los loci la misma importancia sin tomar en cuenta qué tan variables son unos con respecto a otros, y cuánto aportan a la variabilidad total. Por lo tanto, se considera que la heterocigosis representa con mayor fidelidad el nivel

Tabla. IV. Valores de variabilidad genética para invertebrados y diversos demos de *Astraea undosa*.

GRUPO	POLIMORFISMO	HETEROCIGOSIS	FUENTE.
INVERTEBRADOS	25-50%	5 a 15 %	Valentine 1980
<i>Astraea undosa</i>			
Bahía tortugas	45.4	15.9±2.1	Romero R 1989
Bahía Todos Santos	40.0	7.9±0.2	Suárez V. 1989
R. Ballenas BTS	53.0	15.5±0.5	Mendoza A 1989
Bahía del Rosario	33.0	16.8±0.8	Este trabajo.

real de variabilidad del demo estudiado de la especie *A. undosa*.

Sobre la capacidad de adaptación al medio ambiente por una especie Levin (1968, citado por Selender, 1980) propone la teoría del grano ambiental, que da una explicación del polimorfismo enzimático de los grupos taxonómicos según la respuesta de la población al medio ambiente que habita.

El principio indica que los organismos grandes móviles, con un mayor control homeostático y fisiológico tienden a experimentar el ambiente como de grano fino, presentando fenotipos generalistas para las condiciones que se les presentan con mayor frecuencia: por el contrario los organismos pequeños poco móviles o sésiles, con un control homeostático y fisiológico menor, experimentan el medio como de grano grueso, presentando morfos muy variables especializados en proporciones dependientes de la frecuencia de las distintas zonas y de los cambios ambientales que se les pueden presentar.

Astraea undosa es un organismo bentónico de talla grande y estudios de Ramade-Villanueva (1989) suponen que éste presenta un control fisiológico considerable ya que al ensayar el efecto de la temperatura sobre la tasa metabólica, tanto en organismos grandes como pequeños, e independientemente del sexo, la respuesta a la variación de temperatura fue en un sentido de rápida adaptación metabólica.

Con estas características se puede suponer que el organismo percibirá el medio como de grano fino, en una forma menos especializada que los organismos sésiles del grupo de los moluscos, como los bivalvos. Por lo tanto, no debería ser una especie que presente una variabilidad alta. No obstante, sus niveles de heterocigosis se encuentran en los límites superiores considerados para invertebrados (tabla IV).

En las zonas de aguas poco profundas, la correlación de los recursos tróficos es con la estabilidad de la productividad primaria (Valentine, 1980). En estas regiones, los modelos latitudinales de productividad están asociados con la estacionalidad, o al menos con variaciones episódicas de los suministros de nutrientes; las regiones con corrientes convectivas ascendentes estacionales, intermitentes, o con alteración estacional de aguas ricas en nutrientes por aguas pobres en nutrientes, presentan diversidades más bajas dentro de comunidades, que las regiones latitudinalmente comparables con estabilidad nutritiva (Valentine, 1971; citado en Valentine, 1980).

Esta correlación es aplicable en términos de estrategias adaptativas y de grano.

Cuando el grano temporal para los recursos tróficos es grueso (variable), el grano espacial tiende a ser fino (estable). Un alimento estacional trae como estrategia

Útil para un organismo que éste pueda presentar varias opciones de alimento, y por lo tanto mayor oportunidad de sobrevivencia (Valentine, 1980). Este es el caso de *Astraea undosa* que siendo herbívoro oportunista, presenta una alimentación de macroalgas, microalgas y materia orgánica (Aguilar-Rosas *et al.*, 1990), lo que lleva a pensar que este caracol presenta una variabilidad alta para poder aprovechar estos recursos energéticos de la mejor forma posible.

La población de *A. undosa* del Rosario se encontró en equilibrio de (H-W) a excepción del locus IDH, que puede ser debida a causa de la presión selectiva que pudiera estar presentando el organismo, ya que Suárez-Vásquez (1989) y Romero-Romero (1989) reportan este mismo comportamiento para la especie en la Bahía de Todos Santos, B.C., y en la Bahía de Tortugas, B.C.S., México, respectivamente.

La competencia a que *Astraea undosa* puede estar sometida con respecto a otras especies en la comunidad, principalmente *Strongylocentrotus purpuratus*, *S. franciscanus*, otros géneros de equinodermos, caracoles perforadores y otras especies de *Astraea*, que tienen un índice de valor biológico importante (Searcy-Bernal, 1986), son los que pueden limitar a la especie y hacer que exista una selección natural. No obstante, se deberán realizar estudios posteriores para confirmar esta suposición.

La población del Rosario, B.C., está sometida a explotación comercial para consumo humano y como carnada para la captura de la langosta, lo que ocasiona que se presente una selección de organismos dirigida a ciertas tallas, ya que la extracción es directa por buceo provocando que en el medio se encuentren los organismos más pequeños en talla, aún a edades avanzadas.

Se puede sugerir que la población de *Astraea undosa*, a pesar de ser explotada, y tener una competencia importante con otras especies, se encuentra en equilibrio genético, que es indicativo de una población adaptada y sin problemas de sobre-explotación.

En el ostión del Pacífico *Crassostrea gigas* se realizaron estudios para determinar si con intercruzamientos de selección se podría obtener organismos resistentes a ciertas condiciones ambientales. Los cruzamientos se dieron entre individuos de la misma población y posteriormente entre organismos procedentes de los mismos progenitores. Se encontró que a una mayor presencia de loci polimórficos se presentaba un mayor crecimiento, para organismos de la misma edad (Fujio, 1982). Esto propone la hipótesis de que a tallas mayores por grupo de edad mayor heterocigosis, lo cual no se cumple en *Astraea undosa*, posiblemente debido a una muestra pequeña en número de organismos, ya que la falta de datos en los grupos no permite ver si existe o no esta relación. El sesgo de edades presentes también puede ser

la causa de que no se observe la existencia de la relación, o simplemente esta especie de molusco gasterópodo no cumple con esta hipótesis.

VII CONCLUSIONES.

En el estudio electroforético se encontró que la población de *Astraea undosa* del Rosario, B.C., México, se encuentra dentro del equilibrio de Hardy-Weingberg. Es una población comercialmente explotada, genéticamente sana.

El nivel de heterocigosis de la población de *Astraea undosa* del Rosario, B.C., México, es de los más altos para la especie y para invertebrados.

En el análisis de a mayor talla mayor heterocigosis por grupo de edad, no se obtuvieron valores significativos para la muestra analizada.

VIII RECOMENDACIONES.

Es necesario mantener monitoreos sobre la variabilidad genética de esta población para detectar oportunamente la reducción de ésta ante la posible sobre-explotación.

Que otras especies comerciales sean tratadas como *Astraea undosa*, mediante estudios integrales para obtener la información básica necesaria que permita manejarlas con mayor seguridad.

Realizar estudios complementarios para la especie en la zona, para tener un mejor conocimiento de la especie.

IX LITERATURA CITADA

Aguilar-Rosas, R., G. Torres-Moye, A. Almanza-Heredia, 1990. Análisis cualitativo de la dieta macroalgal del caracol *Astraea undosa* (Wood, 1828) en la Bahía de Todos Santos, Baja California, México. Ciencias Marinas (enviado).

Ayala, F. J., D. Hedgecock, G. S. Zumwalt, y W. Valentine, 1973. Genetic variation in *Tridacna maxima*, an ecological analog of some unsuccessful evolutionary lineages. *Evolution* 27:177-191.

Ayala, F. J. y J. A. Kiger Jr., 1984. Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano, México. 863.

Barnes, D. R., 1984. Zoología de Invertebrados, Cuarta edición, Editorial Interamericana, México, D.F. 450-455.

Baqueiro, E., J. A. Masso y H. Guajardo, 1982. Distribución y abundancia de moluscos de importancia comercial en B.C.S. Serie de Divulgación No. 11. Instituto Nacional de Pesca, México 4-13.

Buroker, N. E., 1983. Population genetics of the American oyster *Crassostrea virginica* along the Atlantic coast and the Gulf of México. *Mar. Biol.* 75:99-112.

Fujio, Y., 1982, A correlation of heterocigosity with growth rate in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku Journal of Agricultural Research* 33(2):66-75

Haley y Newkirk 1977. Selecting oysters for faster growth. *Proc 8th Ann.Mett., World Mariculture Soc.* (J.W. Avauttt, ed) 557-565.

Hedgecock, D. R., A. Shlessor y K. Nelson, 1976., Applications of biochemical genetics to aquaculture. *J. Fish. Res. Board. Can.* 33:1108-1119

Kreyszing E. 1973. Introducción a la Estadística Matemática, principios y métodos Editorial Limusa. México, D.F. Cap. XV. 275-290.

Lewontin, R. C., 1974. The genetic basis of evolutionary change. Columbia University Press. Nueva York. 346.

Lewontin R. C. y J. L. Hubby., 1966. Amount variation degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54:577-594.

Mendoza-Aguirre, L. D., 1989. Genética del demo de Rincón de Ballenas, Baja California, México del caracol *Astraea undosa* (Wood, 1828) Tesis de licenciatura F.C.M U.A.B.C 60 pp.

Morris, P. A., 1983. A field guide to Pacific coast shells. Segunda Edición, Houghton Mifflin Company. Boston, E.U.A. 53 pp

Newkirk, G. F., 1980. Review of the genetics and the potencial for selective breeding of comercially importancia bivalves. *Aquaculture* 19:209-228.

Ramade-Villanueva, M. R. 1989. Efecto del tamaño corporal, temperatura y sexo sobre la tasa metabólica del caracol *Astraea undosa*. Tesis de licenciatura F.C.M U.A.B.C 60 Ensenada, Baja California, México 60 pp

Romero-Romero, E., 1989. Variabilidad del caracol *Astraea undosa* (Wood, 1828) en la población de Bahía Tortugas, B.C.S., sujeta a extracción comercial. Tesis de licenciatura. F.C.M. U.A.B.C. Ensenada, Baja California, México. 60 pp

Rosa-Vélez, J. de la, 1986. Variabilidad genética poblacional en ostiones de la especie *Crassostrea virginica* del Golfo de México. Tesis Doctoral ICML/UNAM 125 pp.

Rosa-Vélez, J. de la, G. Torres-Moye, A. Silva-Loera, A.E. Almanza-Heredia y E. Almanza-Heredia, 1987. Evaluación integral de los recursos con potencial económico de la costa oeste de Baja California del Caracol *Astaea undosa* (MOLLUSCA-GASTEROPODA). "Primer informe Académico del Proyecto:" F.C.M/U.A.B.C/SEP 75 pp.

Selander, R. K, 1980. Variación genética en las poblaciones naturales. En: *Evolución Molecular*. F. J. Ayala (ed) Editorial Omega. Barcelona España. 21-47.

Searcy-Bernal, R., 1986, Abundancia de juveniles de abulón amarillo (*Haliotis corrugata*) en relación a factores abióticos y bióticos en la Bahía del Rosario, B.C., México. Tesis Maestría. C.I.C.E.S.E. Ensenada, México. 20-24.

Siengel, S., 1986. Estadística No Paramétrica Aplicada a las Ciencias de la Conducta. Editorial Trillas. Segunda edición. 150-250 pp

Singh S.M. y E. Green 1984. Excess of alonzyme homozygosity in marine molluscs and its possible biological significance Malacologia. 25:569-581.

Sokal, R. R. y F. J. Rohlf, 1979, Biometría Principios y Método Estadísticos en la Investigación Biológica. Editorial H. Blume, Ediciones España 832 pp

Suárez-Vásquez, A., 1989. Genética bioquímica en caracoles de la especie *Astraea undosa* de la Bahía de Todos los Santos, B.C., Tesis de Licenciatura Facultad de Ciencias Marinas. UABC. Ensenada, B.C. 66 pp

Tracey, M., K. Nelson, D. Hedgecock, Robert A. Shlesaeer y M. L. Pressick, 1975. Biochemical genetics of lobsters: Genetic variation and the structure of American lobsters (*Homarus americanus*) populations. J. Fish Res. Board Can. 32(11):2091-2101

Torres-Moye G., F.G. Cupul-Magaña y F. Torrero-Macias., Crecimiento del caracol *Astraea undosa* en la península de Baja California, (escrito en preparación)

Valentine, J., 1980. Estrategias genéticas de la adaptación. En: Evolución Molecular (F. J. Ayala, (ed)) Omega. Barcelona. 80-97.

X ANEXOS.

ANEXO I A.- Volumen del amortiguador y peso de almidón para preparar los geles al 12% a distintos espesores de los geles.

Sistema Amortiguador	ESPESOR DEL GEL (mm)	PESO DE ALMIDON (g)	VOLUMEN DE AMORTIGUADOR DEL GEL (LTS)
A	6	60	0.500
	8	78	0.640
	10	96	0.800
B	6	60	0.500
	8	78	0.640
	10	96	0.800
C	6	60	0.500
	8	78	0.640
	10	96	0.800

* Los pesos y volúmenes son para una celda electroforética. de 20 x 20 cm.

ANEXO I B.- SISTEMAS AMORTIGUADORES, ENZIMAS, TEJIDOS

VOLTAJE A UTILIZAR Y LOCI REVELADOS

(HP= Hepatopáncreas, B= branquia)

Enzima	Tejido	Sistema amortiguador	Tiempo electroforesis (hr)	Voltaje (V)	Loci revelados
ATT	B	C	6	500	2
EM	HP	B	5	200	1
EST	B	C	6	500	3
GDH	B	C	6	500	1
IDH	HP	A	4	200	1
LAF	HP+B	D	5	200	2
LDH	HP	B	5	200	1
MDH	B	C	6	500	2
SOD	B	C	6	500	3

No de loci revelados

16

Anexo II

Sistemas amortiguadores a utilizar y su preparación

A) Sistema TC (Schaal y Anderson 1974)

Amortiguador de los electrodos:

Tris [0.2 M]
Acido Citrico [0.1 M]
pH= 5.8

Amortiguador del Gel

36.4 ml. del Amortiguador del electrodo en 1000 ml.
de Agua destilada.

B) Sistema discontinuo de Puolik (Foulik, 1957)

Amortiguador de los electrodos:

Acido Bórico [0.3 M]
Hidróxido de Sodio [0.5 M]
pH= 8.1

Amortiguador del Gel

Tris [0.076 M]
Acido Citrico [0.005 M]
pH= 8.65

C) Sistema DH (Ayala, 1972)

Amortiguador del Electrodo

Tris [0.087]
Acido Bórico [0.087]
EDTA Disódico. [0.001]

Amortiguador del Gel

El mismo del electrodo.

D) Amortiguador para homogenizar organismos

Tris [0.1 M]
HCl hasta ajustar pH de 7.1

Tinciones para cada uno de los sistemas enzimáticos

- Aspartato Amino Transferasa (AAT)

(Schaal y Anderson, 1974)

Azul Rápido BB.....	250 mg.
H ₂ O	50 ml.
Sustrato AAT pH 7.4.....	50 ml.
Ac: Ceto-Glutárico	0.146 g.
Ac: L. Aspártico.....	0.532 g.
Polivinil- pirrolidona.....	2.000 g.
EDTA Sódico.....	0.200 g.
Na ₂ HPO ₄	5.680 g.
H ₂ O	200.0 ml.

- Enzima Mállica (EM)

(Schaal y Anderson, 1974)

NADH ⁺	20 mg.
NBT (nitroazul de tetrazolio).....	20 mg.
PMS (metasulfuro de fenacina).....	10 mg.
Tris/HCl [0.1 M] pH = 8.4	20 ml.
H ₂ O	51 ml.
MgCl ₂	1 ml.
Sustrato (EM).pH 7.0	5 ml.
Ac.L-mállico	13.4 g.
Na ₂ CO ₃ [2 M]	49 ml.
H ₂ O	51 ml.

Disolver el ácido en agua y agregar lentamente la solución de carbonato mientras se agita en un baño de hielo.

- Esterasa. (EST)

(Modificado de Shaw y Prasad, 1970)

Humedecer el gel en solución de ácido bórico 0.5 M por una hora. (No enjuagar).

Azul Rápido BB	100 mg.
Tris/HCl [0.5 M] pH=7.1	10 ml.
H ₂ O.....	87 ml.

Sustrato (EST)

Alfa Naftil Acetato	30 mg.
Beta Naftil Acetato	30 mg.
Acetona.....	1.5 ml.
H ₂ O	1.5 ml.

- Glutamato Deshidrogenasa (GDH)

(Modificado de Schaal y Anderson, 1974)

NAD.....	50 mg.
NBT	30 mg.
PMS	2 mg.
H ₂ O	70 ml.
Sustrato (GDH).....	25 ml.

Amortiguador Fosfatos [0.5 M] pH = 7.0 ...	25 ml.
Glutamato de Sodio	4.25 g.

- Isocitrato Deshidrogenasa (IDH)

Shaw y Prasad, 1970

NADH ⁺	30 mg.
Isocitrato de Sodio.....	135 mg.
NBT	20 mg.
PMS	2 mg.
Tris/HCl [0.1 M] pH = 8.0	90 ml.

- Lactato Deshidrogenasa (LDH)

NAD	50 mg.
NBT	30 mg.
PMS	2 mg.
Tris/HCl [0.5 M] pH 7.1	15 ml.
NaCN [0.1 M]	5 ml.
H ₂ O	70 ml.
Sustrato LDH	10 ml.
Acido L Mállico	13.4 g.
Na ₂ CO ₃ [1. M]	49 ml.
H ₂ O	51 ml.

* Se prepara en frio

- Leucin-amino-peptidasa (LAP)

Shaw y Prasad, 1970

Sal Negra K.....	50 mg.
L Lecil Beta Naftilamida	20 mg.
H ₂ O	50 ml.
Mezcla de Lap (A+B)	50 ml.
Lap A	
Tris.....	24.2 g
Ac: Maléico	23.2 g
Aforar a un litro.	
Lap B	
NaOH [0.2 M]	26 ml.

Proporciones de Lap A y Lasp B; 50 ml. - 26ml.

- Malato Deshidrogenasa (MDH)

Rosa Velez, 1986

NAD	50 mg.
PMS	2 mg.
Tris/HCl [0.1 M] pH 7.0	10 ml.
NaCN [0.1 M]	5 ml.
H ₂ O	80 ml.
Sustrato MDH	10 ml.
Sustrato (MDH)pH 7.0	5 ml.
Ac.L-mállico	13.4 g.
Na ₂ CO ₃ [2 M]	49 ml.
H ₂ O	51 ml.

Disolver el ácido en agua y agregar lentamente la solución de carbonato mientras se agita en un baño de hielo.

- Superóxido Dismutasa

Aparece ante la sobre exposición de MDH como bandas Blancas sobre fondo azul.

Proteína Total (Prot)

Cubrir el gel con la solución de Azul de Coomasie R-250 al 3% por una hora se regresa la solución a su recipiente y se destiñe con una solución de Metanol y Acido Acético al 20% de (45:55) se destiñe por una hora y se cambia la solución destiñidora por nueva y se deja por 24 horas.