

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS



**“Distribución geográfica, estructura genética y morfometría de
Chione spp. (Mollusca: Bivalvia)
del Golfo de California y Pacífico Mexicano”.**

T E S I S

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

DOCTOR EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFIA COSTERA

PRESENTA

ANA LIVIA LICONA CHÁVEZ

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MEXICO. junio, 2007

"Distribución geográfica, estructura genética y morfometría de *Chione* spp. (Mollusca: Bivalvia) del Golfo de California y Pacífico mexicano".

RESUMEN.

En la presente investigación se amplía el conocimiento de varias especies del género *Chione* que habitan en el Golfo de California y Pacífico mexicano al integrar aspectos de su morfometría, biogeografía y genética poblacional.

Las especies de *Chione* se distribuyen en aguas templado-cálidas del Pacífico Americano y Golfo de México. Algunas de ellas representan un recurso económico para los habitantes de las costas mexicanas, otras se les considera importantes desde el punto de vista biológico. Hasta la fecha estas especies han sido poco estudiadas en aspectos básicos de su biología que permitan su conservación y aprovechamiento de manera sustentable.

Debido a la importancia biológica de este grupo taxonómico, esta investigación tuvo como objetivos estudiar la distribución geográfica así como el análisis genético y morfométrico de once poblaciones pertenecientes a cinco especies de *Chione*. Las especies correspondieron a *C. californiensis*, *C. subimbricata*, *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *C. gnidia* procedentes de las costas del Golfo de California, México y del Pacífico Mexicano y se colectaron entre 24 y 63 ejemplares de cada población.

El análisis de la distribución biogeográfica consistió en una revisión bibliográfica exhaustiva, la cual contribuyó a ubicar con mayor precisión la distribución geográfica de las especies del género. Se analizó además la información referente a la biogeografía histórica de *Chione* y se plantearon diversas hipótesis para explicar su distribución actual. Se identificaron como principales factores que restringen la distribución geográfica del género a regiones tropicales, subtropicales y templadas cálidas, a las isothermas superficiales y los patrones de circulación superficial oceánica.

Para el análisis genético se ensayaron 23 sistemas enzimáticos de los cuales se obtuvieron hasta 21 loci con buena resolución. Se utilizaron extractos de glándula digestiva y músculo abductor, los cuales se sometieron a electroforesis en geles de almidón y poliacrilamida. El análisis de estos resultados reveló que: a) las poblaciones de *Chione* se encuentran en desequilibrio de Hardy-Weinberg, b) los valores de heterocigosidad obtenidos fueron elevados, c) la distancia genética reflejó la relación taxonómica entre las especies y d) las poblaciones de *C. californiensis*, *C. cortezi* y *C. gnidia* mostraron estructuración genética.

En el estudio morfométrico se consideraron para cada población, entre 13 y 15 medidas morfométricas con las que se realizó un Análisis de Funciones Discriminantes (AFD). Se identificaron algunos caracteres de mayor importancia en la definición del modelo morfométrico, mismos que fueron exclusivos para

cada nivel intra o interespecífico. Se calcularon las Distancias Cuadradas de Mahalanobis (D^2) entre los distintos grupos taxonómicos, mismas que ilustraron las relaciones entre poblaciones y especies.

A partir de los resultados obtenidos en la presente investigación es posible concluir que a) el género *Chione* se originó en el Atlántico Occidental, sin embargo en la actualidad ha podido ampliar su distribución hasta regiones subtropicales y templado cálidas tanto del Atlántico como Pacífico americanos, b) los análisis genéticos y morfométricos mostraron que *C. cortezi* es una especie separada de *C. fluctifraga* y que *C. gnidia* mantiene su posición sistemática dentro del subgénero *Chionopsis* y c) ambos análisis corroboraron la relación sistemática entre las cinco especies consideradas en este estudio y reafirmaron el estatus de las especies *C. cortezi* y *C. gnidia*.

Con los resultados generados a partir de esta investigación se confirmó la clasificación taxonómica propuesta por Keen (1971), por lo cual se sugiere seguir utilizándola para el estudio de las poblaciones del género *Chione*.

Palabras clave: *Chione*, Veneridae, biogeografía, genética, morfometría.

Resumen aprobado por:



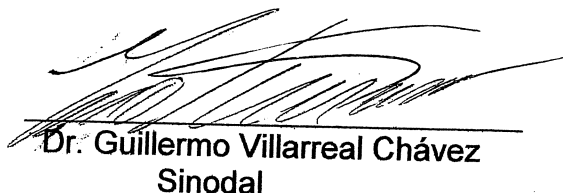
Dr. Francisco Correa Sandoval
Presidente del jurado



Dr. Jorge de la Rosa Vélez
Sinodal



Dr. Jorge Ledesma Vázquez
Sinodal



Dr. Guillermo Villarreal Chávez
Sinodal



Dr. Faustino Camarena Rosales
Sinodal

ABSTRACT.

The purpose of the present study was to contribute with knowledge of morphology, biogeography and population genetics of several species of genus *Chione* from Gulf of California and Mexican Pacific.

Species of genus *Chione* live along warm coasts of the American Pacific Ocean and Gulf of Mexico. Some species have economic importance for the inhabitants of Mexican coasts, others species are considered important from the biological point of view only. To the present day, there are only a few studies about basic biology of these species that help to their conservation and sustainable management.

Due to the importance of this taxonomic group, the objectives of this research were to study the biogeographic distribution and to analyze genetically and morphometrically eleven populations of five species of *Chione*. The species were collected along the coast line of Gulf of California and Mexican Pacific; from 24 to 63 organisms were sampled of each population of *C. californiensis*, *C. subimbricata*, *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *C. gnidia*.

The biogeographic distribution analyses considered an exhaustive bibliographic revision that contributed to establish more accurately the geographic distribution of the species. Historic biogeography of *Chione* was analyzed and hypotheses were proposed to explain their actual distribution. The main factors that limit the geographic distribution of this species were superficial oceanic isotherms and the superficial oceanic currents.

Individual extracts of digestive gland and muscle for each population were carried out in starch or polyacrylamide gels by electrophoresis. Twenty three enzyme systems were assayed and twenty one loci showed clear zymograms. The genetic results revealed that a) all the *Chione* populations assayed were in disequilibrium of Hardy-Weinberg, b) the heterozygosity levels were high, c) genetic distance values confirmed taxonomic relationship between species and d) the populations of *C. californiensis*, *C. cortezi* and *C. gnidia* were genetically structured.

In the morphometric study thirteen to fifteen morphometric measures were statistically analyzed by mean of discriminant functions (DFA). Some characters were identified as more important for the morphometric model and as exclusives for each intra or inter-specific level. Morphometric distances of Mahalanobis (D^2) were computed between taxonomic groups and showed relationship between populations and species.

With this research it was possible to conclude that a) the origin of genus *Chione* occurred in the West Atlantic, however its actual distribution expands toward the subtropical and temperate coasts of both American Atlantic and American Pacific, b) the genetic and morphometric analyses showed that *C. cortezi* is a separated species from *C. fluctifraga* and *C. gnidia* maintain its systematic position inside subgenus *Chionopsis* and c) both kinds of analyses supported the systematic relationship between all five species considered in this study and reiterated the status of species of *C. cortezi* y *C. gnidia*.

The results generated with this research confirm the taxonomic classification proposed by Keen (1971), so this classification is recommended to study populations of the genus *Chione*.

Key words: *Chione*, Veneridae, biogeography, genetics, morphometry.

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFIA COSTERA

**"Distribución geográfica, estructura genética y morfometría de
Chione spp. (Mollusca: Bivalvia)
del Golfo de California y Pacífico mexicano".**

TESIS

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

DOCTOR EN CIENCIAS

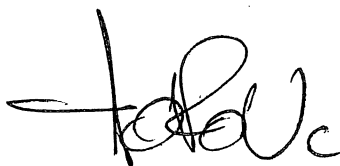
PRESENTA

ANA LIVIA LICONA CHÁVEZ

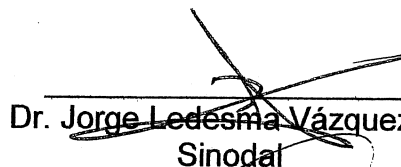
Aprobada por:



Dr. Francisco Correa Sandoval
Presidente del jurado



Dr. Jorge de la Rosa Vélez
Sinodal



Dr. Jorge Ledesma Vázquez
Sinodal



Dr. Guillermo Villarreal Chávez
Sinodal



Dr. Faustino Camarena Rosales
Sinodal

AGRADECIMIENTOS.

Mi agradecimiento muy especial al Dr. Francisco Correa Sandoval, por la dirección de esta tesis y por tener la confianza de que podría concluirla. Además por facilitarme los medios necesarios para el trabajo de laboratorio y de edición del documento.

Agradezco también a los miembros de mi comité de tesis, Dr. Jorge de la Rosa Vélez, Dr. Guillermo Villarreal Chávez, Dr. Faustino Camarena Rosales y Dr. Jorge Ledesma Vázquez, por brindarme sus conocimientos, su experiencia, su gran calidad humana y docente. Gracias a todos ellos porque me apoyaron durante mi estancia en el posgrado.

Agradezco al Dr. Eugenio de Jesús Carpizo Ituarte quien me apoyó durante seis meses con una beca de investigación dentro del proyecto interno IIO-UABC Clave 403/1/7/10.

Agradezco al Dr. Miguel Ángel del Río Portilla, quien fungió como mi director de tesis en la Maestría y quien también ha contribuido a mi formación académica desde entonces.

Agradezco a la M. en Cs. Diana E. Rodríguez y a la Oc. Edna Collins, quienes durante su estancia en el Laboratorio de Genética de Poblaciones y Biología Molecular del IIO-UABC me ayudaron en el trabajo de laboratorio. Además de que gracias a estas sesiones de trabajo duro, pudimos cultivar una gran amistad.

A mis padres Regino y Raquel, mis hermanas Dora y Noemí, mi hermano Jaime y sobrinos Carlos, Fer, Mauri, Naty, Mariana y Andy porque aún en la distancia siempre están conmigo para alentarme.

Mi agradecimiento al Sr. Álvaro Granados Vázquez por apoyarnos durante la preparación de mi examen de candidatura.

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 Doctor en Ciencias en Oceanografía Costera.

Mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haberme otorgado la beca número 122036.

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a mi familia porque son lo más importante en mi vida

Gracias Alberto, Zyanya y Justine

por estar conmigo en todo momento.

ÍNDICE

RESUMEN.....	II
ABSTRACT.....	IV
ÍNDICE.....	X
ÍNDICE DE TABLAS.....	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XVII
I. INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	8
II. OBJETIVOS.	10
III. MATERIALES Y METODOS.	11
ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO.....	11
Revisión Bibliográfica.	11
Biogeografía Histórica de <i>Chione</i> spp.	12
Distribución Geográfica de las especies actuales.	12
ORIGEN DE LAS MUESTRAS.....	15
ANÁLISIS GENÉTICO.....	19
Extracción de Proteínas Solubles.....	19
Análisis Electroforéticos.....	19
Electroforesis en geles de poliacrilamida.	21
Electroforesis en geles de almidón.....	23
Análisis de datos genéticos.	25
ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.....	26
Obtención de los datos morfométricos.	26
Análisis de las mediciones morfométricas.....	27
Análisis de Funciones Discriminantes.	29

IV. RESULTADOS.....	30
ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO.....	30
Origen de <i>Chione</i> spp.....	30
Biogeografía Histórica de <i>Chione</i> spp.	31
Causas de las Extinciones del Neógeno Tardío en América Tropical.	39
Biogeografía Histórica de las especies intermareales en la Península de Baja California.	42
Análisis de la Distribución Geográfica de las especies actuales de <i>Chione</i> en la Península de Baja California.....	48
ANÁLISIS GENÉTICO.....	60
Frecuencias alélicas para <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	60
Comparación de genotipos en <i>C. californiensis</i>	69
Distancias de Nei entre <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	73
Estadísticos F en <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	75
Frecuencias alélicas para <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione</i> sp.	77
Comparación de genotipos en <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione</i> sp.....	83
Distancias de Nei en <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione</i> sp.....	89
Estadísticos F en <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione</i> sp.	91
Frecuencias alélicas para <i>C. gnidia</i>	93
Comparación de genotipos en <i>C. gnidia</i>	98
Distancia de Nei en <i>C. gnidia</i>	101
Estadísticos F en <i>C. gnidia</i>	101
ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.	104
Promedios de las variables morfométricas.....	104
<i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	104
<i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione</i> sp.....	107
<i>C. gnidia</i>	109
Análisis de Funciones Discriminantes.	111
AFD para once poblaciones de <i>Chione</i>	111

<i>C. californiensis</i>	116
<i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	119
<i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i>	122
<i>C. gnidia</i>	127
V. DISCUSION.	129
ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO	129
ANÁLISIS GENÉTICO	132
<i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	133
<i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i>	140
<i>C. gnidia</i>	143
ANÁLISIS MORFOMÉTRICO	145
Promedios de las variables morfométricas	146
Análisis de Funciones Discriminantes.	147
AFD para once poblaciones de <i>Chione</i>	147
<i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	148
<i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i>	152
<i>C. gnidia</i>	153
DISCUSION GENERAL	154
VI. CONCLUSIONES	158
BIOGEOGRAFÍA	158
GENÉTICA	159
MORFOMETRÍA	160
CONCLUSIONES GENERALES	162
VII. LITERATURA CITADA	163
Anexo 1. Amortiguadores y recetas para las soluciones de tinción de las enzimas utilizadas para <i>Chione spp.</i>	177

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I	Clasificaciones taxonómicas propuestas para el genero <i>Chione</i>	5
Tabla II	Límites de las regiones biogeográficas del Pacífico Oriental Americano para invertebrados bentónicos (Tomado de Correa-Sandoval, 1995).....	13
Tabla III	Procedencia de las poblaciones de <i>Chione sp.</i> analizadas es este estudio.....	17
Tabla IV	Sistemas enzimáticos probados en la estandarización de las técnicas en electroforesis para <i>Chione sp.</i>	20
Tabla V	Sistemas enzimáticos utilizados en la electroforesis en geles de BIS-poliacrilamida para <i>Chione sp.</i>	23
Tabla VI	Sistemas enzimáticos utilizados en la electroforesis en geles de almidón para <i>Chione sp.</i>	24
Tabla VII	Épocas probables en las que se originaron las especies de <i>Chione</i> en el Pacífico Americano y principales eventos relacionados.....	37
Tabla VIII	Especies fósiles de <i>Chione</i> en el Pacífico Americano. Se indica para cada especie la época, localidad y referencia bibliográfica.....	47
Tabla IX	Distribución geográfica y tipo de hábitat de las especies intermareales de <i>Chione</i> en el Pacífico Americano.....	49
Tabla X	Distribución latitudinal de las especies de <i>Chione</i> analizadas en este estudio.....	52

Tabla XI	Frecuencias alélicas, probabilidad para el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (HW) y Coeficiente de Endogamia (F_{IS}) para <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	62
Tabla XII	Comparaciones alélicas significativas para <i>C. californiensis</i> (prueba G de probabilidad, Genepop 3.3).....	68
Tabla XIII	Comparación de los genotipos para tres poblaciones de <i>C. californiensis</i> (Genepop 3.3).....	70
Tabla XIV	Distancia genética de Nei (1978) (arriba de la diagonal) y distancia geográfica (Km) (debajo de la diagonal) para <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i> (BIOSYS-1).....	74
Tabla XV	Estadísticos F para tres poblaciones de <i>C. californiensis</i> (FSTAT 2.8).....	76
Tabla XVI	Frecuencias alélicas, probabilidad para el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (HW) y Coeficiente de Endogamia (F_{IS}) para <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i>	78
Tabla XVII	Comparaciones alélicas significativas entre <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i> (prueba G de probabilidad, Genepop 3.3).....	82
Tabla XVIII	Comparación de genotipos para poblaciones de <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i> (Genepop 3.3).....	85
Tabla XIX	Comparaciones de genotipos significativas para <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i> (prueba G de probabilidad, Genepop 3.3).....	89
Tabla XX	Distancia genética de Nei (1978) para <i>Chione cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i> (BIOSYS-1)...	90
Tabla XXI	Estadísticos F para <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i> (FSTAT 2.8).....	93

Tabla XXII	Frecuencias alélicas, probabilidad para el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (HW) y Coeficiente de Endogamia (F_{IS}) para <i>C. gnidia</i> ...	95
Tabla XXIII	Comparación de los genotipos para dos poblaciones de <i>C. gnidia</i> (Genepop 3.3).....	99
Tabla XXIV	Estadísticos F para <i>C. gnidia</i> (FSTAT 2.8).....	102
Tabla XXV	Promedios de las medidas morfométricas de las poblaciones de <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i> (músculo expresado en gramos, las demás medidas expresadas en milímetros)...	106
Tabla XXVI	Promedios de las medidas morfométricas para dos poblaciones de <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione</i> sp. (desviaciones estándar entre paréntesis).....	107
Tabla XXVII	Promedios de las medidas morfométricas para dos poblaciones de <i>C. gnidia</i> (desviaciones estándar entre paréntesis).....	110
Tabla XXVIII	Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para todas las poblaciones de <i>Chione</i>	112
Tabla XXIX	Matriz de clasificación para todas las especies de <i>Chione</i> analizadas.....	115
Tabla XXX	Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis para todas las especies de <i>Chione</i> analizadas.....	115
Tabla XXXI	Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para las tres poblaciones de <i>C. californiensis</i>	116
Tabla XXXII	Matriz de clasificación para tres poblaciones de <i>C. californiensis</i>	118
Tabla XXXIII	Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	119

Tabla XXXIV	Matriz de clasificación para <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	121
Tabla XXXV	Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis para <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	121
Tabla XXXVI	Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-Raíces canónicas) para <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i>	123
Tabla XXXVII	Matriz de clasificación para <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i>	125
Tabla XXXVIII	Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis para las poblaciones de <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione sp.</i>	126
Tabla XXXIX	Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para las poblaciones de <i>C. gnidia</i>	128
Tabla XL	Matriz de clasificación para <i>C. gnidia</i>	128

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Características de la concha de <i>Chione</i> con importancia diagnóstica (Tomado de Coan <i>et al.</i> 2000).....	2
Figura 2	Distribución de las especies de <i>Chione</i> en el Pacífico y Atlántico americanos.....	7
Figura 3	Regiones biogeográficas del Pacífico Oriental Americano (Tomado de Correa-Sandoval, 1995).....	14
Figura 4	Valva izquierda de <i>Chione</i> indicando las estructuras que se midieron en el análisis morfométrico (Tomado de Roopnarine, 1995).....	28
Figura 5	Regiones biogeográficas del Neógeno Tropical Americano.....	33
Figura 6	Temperaturas medias superficiales del mar en enero (A) y en julio (B) en el Golfo de California (Tomado de Correa y Carvacho, 1992).....	53
Figura 7	Patrón general de circulación superficial oceánica en el Pacífico Oriental Americano (Tomado de Tchernia, 1980).....	55
Figura 8	Isotermas superficiales de invierno en el Pacífico Oriental Americano (Tomado de Tchernia, 1980).....	57
Figura 9	Isotermas superficiales de verano en el Pacífico Oriental Americano (Tomado de Tchernia, 1980).....	59
Figura 10	Representación de la distancia genética de Nei (1978) por medio del análisis de agrupamiento UPGMA entre las poblaciones de <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	74

Figura 11	Representación de la distancia genética de Nei (1978) por medio del análisis de agrupamiento UPGMA entre las poblaciones de <i>C. cortezi</i> , <i>Chione</i> sp. y <i>C. fluctifraga</i>	91
Figura 12	Largo promedio de la valva izquierda de las poblaciones de <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	105
Figura 13	Largo promedio de la valva izquierda de las poblaciones de <i>C. cortezi</i> , <i>C. fluctifraga</i> y <i>Chione</i> sp.....	108
Figura 14	Largo promedio de la valva izquierda de las poblaciones de <i>C. gnidia</i>	109
Figura 15	Gráfica del AFD de la raíz 1 contra la raíz 2 para todas las especies de <i>Chione</i> . A) Con todos los datos, y B) Promedio de las variables canónicas.....	113
Figura 16	Dendrograma de las distancias de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos para todas las especies de <i>Chione</i>	114
Figura 17	Gráfica del AFD de la raíz 1 contra la raíz 2 para tres poblaciones de <i>C. californiensis</i> . A) Con todos los datos, y B) Promedio de las variables canónicas.....	117
Figura 18	Dendrograma de las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos de <i>C. californiensis</i>	118
Figura 19	Gráfica del AFD de la raíz 1 contra la raíz 2 para las tres poblaciones de <i>C. californiensis</i> y la de <i>C. subimbricata</i> . A) Con todos los datos y B) Promedio de las variables canónicas.....	120
Figura 20	Dendrograma de las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos de <i>C. californiensis</i> y <i>C. subimbricata</i>	122

- Figura 21** Gráfica del AFD de la raíz 1 contra la raíz 2 para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.* A) Con todos los datos, y B) Promedio de las variables canónicas..... 124
- Figura 22** Dendrograma de las distancias de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos de *C. cortezi* y *C. fluctifraga*..... 127

I. INTRODUCCION.

Los moluscos bivalvos de la Familia Veneridae (Megerle von Mühlfeld, 1811) comprenden alrededor de 500 especies que están clasificadas en 12 subfamilias con 50 géneros existentes (150 subgéneros) y 55 extintos (99 subgéneros) cuyos los fósiles más antiguos datan de aproximadamente 130 millones de años (Ma) (Harte, 1992a).

Los organismos pertenecientes a esta familia habitan en una amplia variedad de ecosistemas marinos y están caracterizados por tener tres dientes cardinales en cada valva de los cuales uno o más pueden ser denticulados o bífidos. Poseen lúnula, estuche y habitualmente un seno palial, lo cual indica sus hábitos excavadores. Las valvas tienen escultura concéntrica que va desde denticulada a pronunciada, y en algunas veces es radial y divaricada. El ligamento es externo y se encuentra sobre una plataforma particular llamada ninfa (Keen, 1971; Harte, 1992b).

Dentro de la familia Veneridae se ubica al género *Chione* cuyos miembros están caracterizados por presentar escultura concéntrica en las valvas, además de tener lúnula y estuche bien definidos en la mayoría de las formas, así como costillas radiales pronunciadas (Figura 1). Este género comprende alrededor de 67 especies que se distribuyen principalmente en los trópicos de las cuales aproximadamente hay 40 especies vivientes (Keen, 1971; Harte, 1992a).

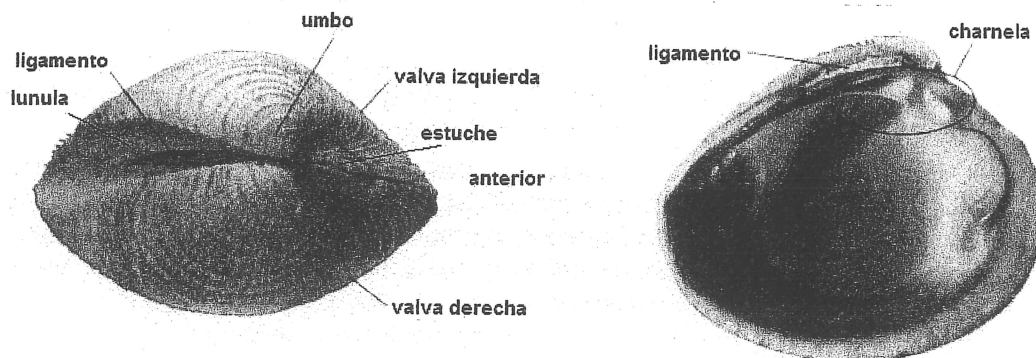


Figura 1 Características de la concha de *Chione* con importancia diagnóstica (Tomado de Coan *et al.* 2000).

En las costas del Pacífico Americano están documentadas un total de 25 especies de este género, siendo quince las que se distribuyen en la Península de Baja California (Keen, 1971; Abbot, 1974) principalmente en el intermareal y el submareal, a excepción de *C. mariae* que habita a profundidades de hasta 110 metros.

Especies de importancia comercial en la Península de Baja California.

Algunas de las especies del Pacífico mexicano tienen importancia comercial, tal es el caso de *C. californiensis*, *C. cortezi*, *C. fluctifraga*, *C. gnidia* (almeja china) y *C. undatella*.

C. californiensis es una especie explotada comercialmente en Baja California Sur cuyos bancos se encuentran localizados en las zonas

intermareales; sin embargo, se captura con mayor frecuencia en áreas someras expuestas durante la marea baja. La captura de los organismos con fines comerciales se realiza manualmente o mediante el uso de rastrillos (García-Domínguez *et al.*, 1991; Castro-Ortiz y García-Domínguez, 1993). Esta especie se ha explotado durante muchos años sin tomar en cuenta ninguna medida de regulación (Baqueiro, 1989).

C. fluctifraga es conocida localmente como almeja negra y es explotada ampliamente a nivel regional, sin embargo, debido a un inadecuado manejo, su pesquería ha sido muy irregular (Martínez-Córdoba, 1987).

C. gnidia esta especie es conocida como almeja china y es una de las especies más apreciadas debido a que alcanza tallas de hasta 120 mm de longitud, razón por la cual los pescadores locales han acabado prácticamente con las poblaciones locales (Martínez-Córdoba, 1988).

C. undatella es una especie con características similares a *C. californiensis* en cuanto al modo de captura y la distribución de los bancos, motivo por el cual esta almeja ha sido un recurso alternativo para los pescadores locales que en ocasiones llegan a acabar con sus bancos (Baqueiro y Masso, 1988).

Sistemática.

Los criterios para la clasificación taxonómica de la Familia Veneridae (Rafinesque, 1815) a la que pertenece el género *Chione* están basados exclusivamente en caracteres morfológicos. La clasificación taxonómica de *Chione* fue publicada por Keen (1971) quien propuso seis subgéneros: *Chione s. s.*, *Chionista*, *Chionopsis*, *Ilioichione*, *Lirophora* y *Timoclea*. Posteriormente Woodring (1982) y Ward (1992) citados en Roopnarine (1998) asignaron al subgénero *Lirophora* la categoría de género. En 1996, Roopnarine realizó un análisis filogenético en el cual incluyó especies fósiles y actuales, proponiendo a los subgéneros *Chione s. s.* y *Chionista* y asignó la categoría de género a algunos de los subgéneros propuestos por Keen (1971) *Chionopsis*, *Ilioichione*, *Lirophora*, *Puberella* y *Panchione* (Tabla I).

A la fecha, los reportes encontrados sobre el género *Chione* no abordan aspectos de genética de poblaciones, morfometría o biogeografía mismos que han mostrado contribuir de manera importante al conocimiento de la dinámica, estructura y posible variación clinal de numerosas poblaciones y especies. Desde esta perspectiva la presente investigación aportará los conocimientos que esclarecen el estatus de la sistemática del género *Chione* desde tres diferentes enfoques: biogeografía, genética de poblaciones y morfometría.

Tabla I Clasificaciones taxonómicas propuestas para el genero *Chione*.

Clasificación tradicional (Keen, 1971)		Clasificación nueva (Roopnarine, 1996)	
Género	Subgénero	Género	Subgénero
<i>Chione</i>	<i>Chione</i> <i>Chionista</i> <i>Chionopsis</i> <i>Iliochoine</i> <i>Lirophora</i>	<i>Chione</i>	<i>Chione</i> <i>Chionista</i>
	<i>Timoclea</i>	<i>Chionopsis</i> <i>Iliochoine</i> <i>Lirophora</i> <i>Panchione</i> <i>Puberella</i>	
		<i>Timoclea</i>	
<i>Anomalocardia</i>		<i>Anomalocardia</i>	
<i>Mercenaria</i>		<i>Mercenaria</i>	
<i>Protothaca</i>		<i>Protothaca</i>	

Variación Geográfica.

La variación en la distribución geográfica de un taxa puede explicarse tanto por las circunstancias históricas como por factores ecológicos que operan en la actualidad sobre su habitat (Futuyma, 1998).

La densidad de ocupación y disposición relativa de los diferentes elementos del mosaico sobre el que se distribuye una especie tienen gran importancia en la definición de las propiedades dinámicas y genéticas de la población entera. El área actual de distribución de una especie suele ser considerablemente distinta de aquella que ocupó en algún momento de máxima expansión después de su aparición. Por otra parte, una especie no sólo es

variable en función de distintos lugares de su área geográfica total, sino que existe una reserva de variabilidad dentro de la misma población donde viven individuos que se pueden cruzar entre sí. Las diversas formas o *morfos* pueden coexistir con una representación similar en distintos puntos contiguos; pero si el ambiente es heterogéneo, es natural encontrar una frecuencia distinta de morfos (polimorfismo) en zonas diferentes dentro de un mismo ambiente. El polimorfismo tiene como consecuencia el aumento de la adaptación de la especie, que se manifiesta en una expansión de su área (Margalef, 1983).

La distribución geográfica del género *Chione* sp. ha permanecido restringida a América Tropical desde su aparición en el Oligoceno Temprano. En la actualidad se distribuye en el Atlántico, desde Carolina del Sur hasta Brasil y en el Pacífico, desde el Sur de California hasta Perú (Roopnarine, 1996) (Figura 2).

Debido a que *Chione* es una especie con fase larvaria pelágica, su dispersión esta determinada por diversos factores oceanográficos que influyen de manera importante sobre su distribución geográfica.

Variación Genética.

Los análisis de genética de poblaciones por medio de alozimas revelan diferencias químicas que contribuyen a identificar poblaciones y especies (Futuyma, 1998). Esto se debe a que las proteínas presentan, en la mayoría de las especies, un elevado número de polimorfismos que pueden servir como

marcadores genéticos. De esta manera, los estudios de genética de poblaciones aportan los elementos que permiten un mayor entendimiento de cómo algunos factores (bióticos y abióticos) influyen en la variación de la distribución geográfica o bien en la estructuración de una población, por lo que es viable establecer pautas para su manejo.



Figura 2 Distribución actual de las especies de *Chione* en el Pacífico y Atlántico americanos.

Variación Morfométrica.

Los análisis de caracteres morfométricos permiten diferenciar grupos taxonómicos que ocurren naturalmente (géneros, subgéneros, especies, poblaciones) además de que hacen posible identificar y determinar cuales son los rasgos que mejor describen a cada taxa (Reimchen *et al.*, 1985). Este tipo de estudios han permitido reconocer cierto grado de variación morfológica en peces en relación a su distribución geográfica (Reimchen *et al.*, 1985; Camarena-Rosales, 1999) así como en bivalvos (Roopnarine, 1995).

Al complementar estos estudios con marcadores genéticos como las alozimas (Richardson *et al.*, 1986) se pueden identificar con mayor claridad y precisión poblaciones y especies (Futuyma, 1998).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las clasificaciones taxonómicas tradicionales para los moluscos han considerado casi exclusivamente características morfológicas. Sin embargo, para aquellas especies de difícil identificación, es posible tener más exactitud en la clasificación de un taxa si, además de éstas características, se complementa su estudio con metodologías analíticas. Estas consideran por ejemplo los análisis de caracteres morfológicos y los análisis de genética de poblaciones. De esta manera, la presente investigación abordó el estudio del género *Chione* bajo un marco metodológico que incluyó un análisis biogeográfico, un análisis genético y un análisis morfométrico de caracteres

conquiológicos, que permitieron la diferenciación de poblaciones y especies a lo largo de su distribución en el Pacífico Oriental mexicano y el Golfo de California, México. De igual manera, tomando en cuenta la información obtenida a partir de estos estudios se revisó la posición sistemática de algunas de sus especies en esta zona geográfica. Al generar todo este conocimiento que hasta la fecha no se había generado, se obtuvo un mayor número de elementos que permitieron esclarecer aspectos hasta este momento desconocidos de estas especies y con esto se podrán establecer pautas para lograr un manejo sustentable de estos recursos.

II. OBJETIVOS.

En la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos

- ♦ Realizar un análisis Biogeográfico-Ecológico de las especies intermareales de *Chione* con importancia comercial en las costas de la Península de Baja California.
- ♦ Caracterizar genéticamente once poblaciones de *Chione*, pertenecientes a diferentes especies por medio de estimadores genéticos y determinar la posible estructuración genética dentro de una misma especie.
- ♦ Identificar los caracteres morfométricos que permiten una diferenciación entre los taxa de *Chione* spp. (subgéneros y especies) y estimar las relaciones morfométricas entre ellos.
- ♦ Con base en la integración de los análisis morfométricos, genéticos y biogeográficos, proponer un modelo filogeográfico que permita reconsiderar la sistemática actual de algunas de las especies intermareales de *Chione* de las costas de la Península de Baja California.

Con el fin de tener un orden lógico en el texto y de acuerdo a lo obtenido en la presente investigación, los apartados correspondientes a Materiales y Métodos, Resultados, Discusiones y Conclusiones, son presentados en secciones de acuerdo a la temática que abordan. Por lo tanto, en primer término se hace referencia al análisis biogeográfico; en segundo término, al análisis genético y finalmente, al análisis morfométrico.

III. MATERIALES Y METODOS.

ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO.

Revisión Bibliográfica.

Para el análisis filogeográfico de *Chione spp* se llevó a cabo una revisión bibliográfica exhaustiva para obtener la información disponible hasta el momento, para lo cual se consultaron las siguientes bases de datos:

Zoological Records: Se realizó la búsqueda en la Biblioteca de Scripps (Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, EE. UU.), la cual abarcó desde 1900 hasta 2006.

BIOSIS, ASFA y Current Contents: Se realizó una búsqueda desde el año de 1985 al 2006 en CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada) y la UABC (Universidad Autónoma de Baja California).

En estas revisiones se obtuvieron las citas bibliográficas referentes a ecología, sistemática, taxonomía, registro fósil y distribución geográfica de las

especies del género. Para complementar la información, se hicieron revisiones de tesis de licenciatura y posgrado en bibliotecas del CICESE, la UABC y la UABCS en las que se incluyeran algunas de las especies de *Chione*.

Biogeografía Histórica de *Chione* spp.

En relación a la biogeografía histórica de *Chione* se tomó como referencia principal el trabajo de Roopnarine (1996), en el cual hace una extensa revisión de la distribución geográfica de especies fósiles y actuales. Sin embargo por lo extenso del tema aún falta profundizar y precisar algunos puntos referentes a la distribución del género en el Golfo de California. En la presente investigación se hizo un análisis del trabajo de este autor y se plantearon algunas hipótesis para tratar de explicar la distribución actual del género en la costa de la Península de Baja California.

Distribución Geográfica de las especies actuales.

La información recopilada durante la revisión bibliográfica, se analizó para integrar y ubicar con la mayor precisión posible, la distribución geográfica de las especies actuales, centrando el interés en aquellas que se distribuyen en el Pacífico Tropical Oriental y el Golfo de California.

La distribución geográfica y la descripción taxonómica de las especies en ésta investigación integró los trabajos de Keen (1971), Abbot (1974), Skoglund (1991) y Coan *et al.* (2000).

Las provincias y áreas biogeográficas del Pacífico Oriental Americano que se analizaron incluyeron aquellas en las que se distribuye el género *Chione*, es decir desde la Provincia Californiana (34 ° N), hasta el sur de la Provincia Peruana (30 ° S) (Tabla II) (Figura 3).

Para la clasificación de las provincias biogeográficas del Pacífico Oriental, se adoptó la propuesta de Vermeij (1980) para invertebrados bentónicos y la de Correa-Sandoval y Rodríguez-Cortés (1998).

Tabla II Límites de las regiones biogeográficas del Pacífico Oriental Americano para invertebrados bentónicos (Tomado de Corrêa-Sandoval, 1995).

Provincia	Límites	Abreviatura
Californiana	34 ° N – 28 ° N	Cal
Cortesiana:		
Alto Golfo de California	32 ° N – 29 ° N	AGol
Bajo Golfo de California	29 ° N – 23 ° N	BGol
Mexicana	23 ° N – 16 ° N	Mex
Panámica	16 ° N - 3 ° S	Pan
Galápagos	1 ° N - 1 ° S	Gal
Peruana	3 ° S – 30 ° S	Per

N= Norte, S= Sur.

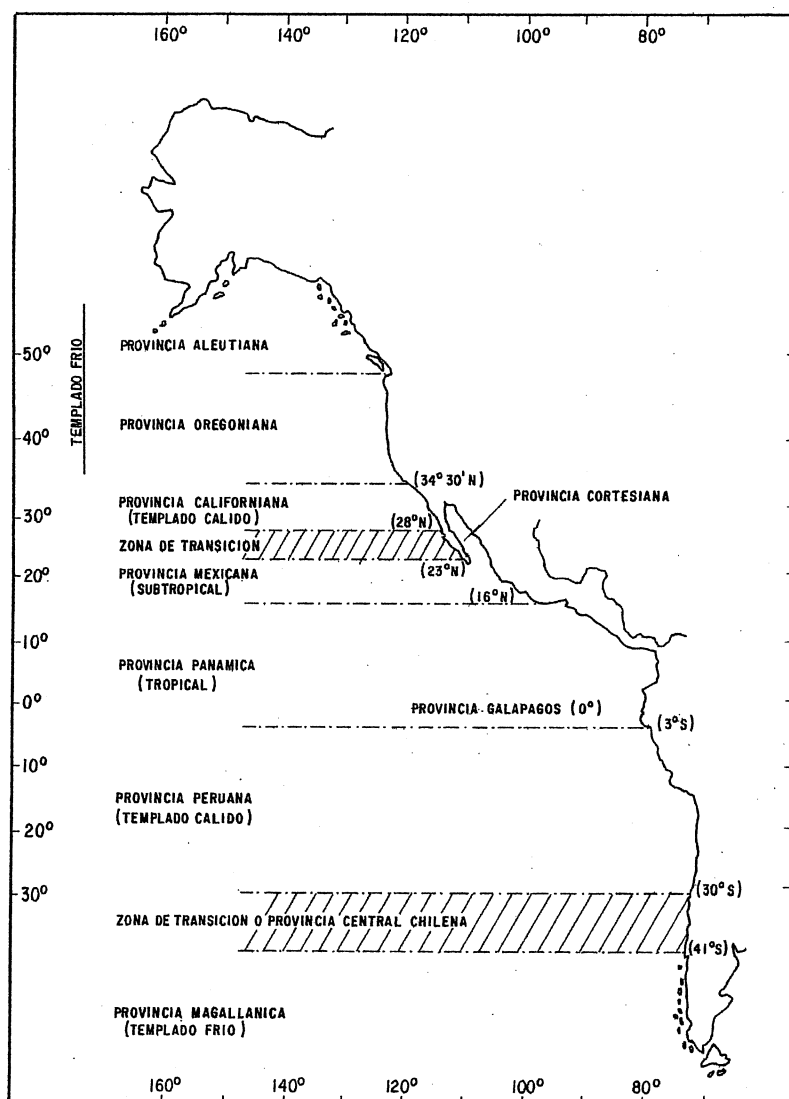


Figura 3 Regiones biogeográficas del Pacífico Oriental Americano (Tomado de Correa-Sandoval, 1995).

Para el Golfo de California se tomó el criterio de Briggs (1974) quien consideró a esta zona como una región separada de la Provincia Mexicana, debido al elevado número de especies endémicas y le asignó el nombre de Provincia de Cortés. Posteriormente Correa y Carvacho (1992) publicaron que

esta Provincia está dividida en dos áreas: el Alto Golfo y el Bajo Golfo (Tabla II) separadas por una barrera biogeográfica, la “barrera de islas” que impide la libre distribución de muchas especies de invertebrados bentónicos. De esta manera, para el análisis biogeográfico aquí presentado, también se tomó en cuenta las dos áreas que conforman la Provincia de Cortés.

Los parámetros ambientales que se analizaron para explicar la distribución geográfica de las especies fueron las corrientes oceánicas superficiales y la temperatura superficial oceánica (Valentine, 1973) así como su variación estacional de acuerdo a lo reportado por Mc Lelland (1975) y Bernard *et al.* (1991).

ORIGEN DE LAS MUESTRAS.

Las almejas del genero *Chione* utilizadas para los análisis genéticos y morfométricos procedieron de 11 poblaciones de las costas de Baja California y fueron adquiridas a través de donaciones realizadas por diferentes investigadores de instituciones y universidades de México durante los años 1999 y 2000.

Los ejemplares de la especie *C. californiensis* fueron proporcionados por el Dr. Carlos Maeda Martínez del Centro Interdisciplinario en Ciencias del Mar del Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN) en La Paz, Baja California Sur (BCS). Estas muestras fueron recolectadas en tres localidades: 1) Laguna Agiabampo, Sonora (26 ° 06 ' a 26 ° 32 ' Norte, 109 ° 01 ' a 109 ° 20' Oeste) en

junio de 2000; 2) Puerto San Carlos, Baja California Sur ($24^{\circ} 47' \text{ Norte}$, $112^{\circ} 07' \text{ Oeste}$) en julio de 2000 y 3) Ensenada de la Paz, Baja California Sur ($24^{\circ} 11' \text{ a } 24^{\circ} 06' \text{ Norte}$, $110^{\circ} 19' \text{ a } 110^{\circ} 25' \text{ Oeste}$) en octubre de 2000. De estas poblaciones se obtuvieron 24, 51 y 59 organismos respectivamente (Tabla III).

La especie *C. subimbricata* que se designó como población 4 (Tabla III), fue recolectada por miembros del Cuerpo Académico de Ecología Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) en noviembre de 1999 y solamente fue encontrada en las playas de Melaque, Jalisco ($19^{\circ} 19' 36'' \text{ Norte}$, $104^{\circ} 49' 53'' \text{ Oeste}$), no obstante de que se hicieron exploraciones en otras playas a lo largo de la vertiente oriental del Golfo de California, desde el Estado de Sonora hasta las costas del Estado de Jalisco en el Pacífico mexicano. El número de organismos recolectados de esta especie fue de 24 (Tabla III).

De la especie *C. cortezi* se obtuvieron muestras de dos poblaciones recolectadas por el Dr. Guillermo Villarreal de la FCM de la UABC. La primera de ellas se designó como población 5 y consistió de 30 organismos procedentes de Bahía Adair, B. C. ($31^{\circ} 35' 32'' \text{ Norte}$, $113^{\circ} 56' 15'' \text{ Oeste}$), sin embargo, no se precisó la fecha en que fueron recolectados estos ejemplares. La otra población de esta misma especie se denominó como 6 y provino de la colecta realizada en junio del año 2000, en el Puerto de San Felipe, B. C. ($21^{\circ} 45' \text{ Norte}$, $98^{\circ} 50' \text{ Oeste}$) con un total de 30 ejemplares.

Tabla III Procedencia de las poblaciones de *Chione* sp. analizadas en este estudio.

Especie	Población	Localización geográfica	Clave	No.
1. <i>C. californiensis</i>	Laguna Agiabampo, Sonora.	26 ° 06 ' a 26 ° 32 ' N 109 ° 01 ' a 109 ° 20 ' O	CalILA	24
2. <i>C. californiensis</i>	Puerto San Carlos, BCS.	24 ° 47 ' N 112 ° 07 ' O	CalISC	51
3. <i>C. californiensis</i>	Ensenada de la Paz, BCS.	24 ° 11 ' a 24 ° 06 ' N 110 ° 19 ' a 110 ° 25 ' O	CalILP	59
4. <i>C. subimbricata</i>	Melaque, Colima.	19 ° 19 ' N 104 ° 49 ' O	Sub	26
5. <i>C. cortezi</i>	Bahía Adair, B. C.	31 ° 35 ' 32 " N, 113 ° 56 ' 15 " O	CoBA	30
6. <i>C. cortezi</i>	San Felipe, B. C.	21 ° 45 ' N, 98 ° 50 ' O	CoSF	30
7. <i>C. fluctifraga</i>	Bahía Adair, B. C.	31 ° 35 ' 32 " N, 113 ° 56 ' 15 " O	Flu	63
8. <i>Chione</i> sp	San Felipe, B. C.	21 ° 45 ' N, 98 ° 50 ' O	CSF	30
9. <i>Chione</i> sp	San Quintín, B. C.	30 ° 27 ' N 116 ° O	CSQ	30
10. <i>C. gnidia</i>	Laguna Agiabampo, Sonora.	26 ° 06 ' a 26 ° 32 ' N, 109 ° 01 ' a 109 ° 20 ' O	GniLA	51
11. <i>C. gnidia</i>	Tecapán, Sinaloa.	22 ° 30 ' 53 " N, 105 ° 45 ' 26 " O	GniTe	47

N= Norte, O= Oeste, No.= número de ejemplares recolectados

La especie *C. fluctifraga* fue donada por el Dr. Villarreal quien la recolectó en la localidad de Bahía Adair, B. C. y cuyo número de muestras fue de 63 (población 7).

Las poblaciones 8 y 9 correspondieron a ejemplares de *Chione* no identificados hasta la categoría de especie por lo que se les denominó solamente *Chione* sp. La población 8 fue recolectada en junio de 2000 proveniente de Bahía Adair, B. C. ($31^{\circ} 35' 32''$ Norte, $113^{\circ} 56' 15''$ Oeste) con un total de 63 individuos, mientras que la población 9 se recolectó en Bahía de San Quintín, B. C. ($30^{\circ} 27'$ Norte, 116° Oeste) con un total de 30 ejemplares.

De la especie *C. gnidia* fueron recolectados 51 individuos en la localidad de Laguna Agiabampo, Sonora ($26^{\circ} 06'$ a $26^{\circ} 32'$ Norte, $109^{\circ} 01'$ a $109^{\circ} 20'$ Oeste) en junio de 2000 (población 10) y 47 individuos en la localidad de Tecapán, Sinaloa ($22^{\circ} 30' 53''$ Norte, $105^{\circ} 45' 26''$ Oeste) en diciembre de 2000.

Todos los organismos obtenidos se transportaron en hieleras y por vía aérea al Laboratorio de Genética y Biología Molecular (LGBM) del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (II0) en la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) Unidad Ensenada, México.

Una vez en el laboratorio los organismos fueron almacenados en un ultra congelador a -80°C hasta el momento de su disección.

ANÁLISIS GENÉTICO.

Extracción de Proteínas Solubles.

Para los análisis electroforéticos se procedió a extraer de cada organismo el músculo aductor y la glándula digestiva, los cuales se procesaron individualmente con un homogenizador de tejidos (Tissue Terator 985-370) y con amortiguador Tris HCl 0.2 M pH 8.0 con 2 mg ml⁻¹ de fenil metil sulfonyl fluoruro (PMSF) con la finalidad de extraer las proteínas solubles. Cada homogenizado se colocó en una centrífuga (*DAMON IEC B -20 A*) a 10,000 rpm (12587 x g) durante 20 minutos a 4 ° C. Una vez centrifugadas las muestras se extrajo el sobrenadante y se almacenó en tubos eppendorf de 2.0 ml a -80 ° C hasta su utilización en la electroforesis. En todos los casos se procuró que la relación de tejido y solución homogenizadora fuera de 1:1.5.

Análisis Electroforéticos.

En la estandarización de las técnicas de electroforesis se ensayaron un total de 23 sistemas enzimáticos para todas las poblaciones (Tabla IV), tanto en geles de almidón como de poliacrilamida con el fin de obtener la mejor resolución posible en los zimogramas. De los 23 sistemas enzimáticos, en 13 se obtuvieron zimogramas con buena resolución.

Tabla IV Sistemas enzimáticos probados en la estandarización de las técnicas en electroforesis para *Chione sp.*

Enzima	No. E.C.	Abr.	Estructura cuaternaria
1. Alcohol deshidrogenasa	1.1.1.1	ADH	D
2. Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa	1.1.1.8	GPD	D
3. Lactato deshidrogenasa	1.1.1.27	LDH	T
4. Malato deshidrogenasa	1.1.1.37	MDH	D
5. Enzima Málica	1.1.1.40	ME	T
6. Isocitrato deshidrogenasa	1.1.1.42	IDH o ICD	D
7. Fosfogluconato deshidrogenasa	1.1.1.44	6PGDH o PGD	D
8. Xantina deshidrogenasa	1.1.1.204	XDH	T
9. Glutamato deshidrogenasa	1.4.1.3	GDH	
10. Superóxido dismutasa	1.15.1.1	SOD	D ó T
11. Aspartato amino transferasa	2.6.1.1	AAT o GOT	D
12. Hexoquinasa	2.7.1.1	HK	M
13. Fosfo-glucomutasa	2.7.5.1	PGM	M
14. Esterasas	3.1.1.-	EST	D
15. Esterasa D	3.1.1.1	ESD	D
16. Fosfatasa alcalina	3.1.3.1	ALP	D
17. Fosfatasa ácida	3.1.3.2	ACP	M ó D
18. Leucina aminopeptidasa	3.4.1.1.-	LAP	M
19. Peptidasas	3.4.11 ó 13	PEP	M ó D
20. Fumarasa	4.2.1.2	FUM o FH	T
21. Triosa fosfato isomerasa	5.3.1.1	TPI	D
22. Manosa fosfato isomerasa	5.3.1.8	MPI	M
23. Glucosa-6-fosfato isomerasa	5.3.1.9	GPI	D

Abr.= abreviatura, M= monómero, D= dímero, T= tetrámero

A continuación se describe el procedimiento de preparación de cada tipo de gel utilizado en las electroforesis, así como los sistemas enzimáticos

ensayados en cada uno de ellos y en los cuales se obtuvieron mejores resultados de tinción.

Electroforesis en geles de poliacrilamida.

Las dimensiones de las placas de vidrio en las que se hicieron los geles fueron de 10 mm X 10 mm y se utilizaron espaciadores de 0.5 mm de grosor.

Se preparó una solución stock de acrilamida (24 g de acrilamida, 1.92 g de metileno de bisacrilamida BIS) en 600 ml de amortiguador TME 7.8 (0.1 M Tris, 0.1 M ácido maleico, 0.01 EDTA y 0.016 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) diluido 1:10, la cual se filtró a 10 μm con filtro GFC Whatmann y se sometió al vacío durante 5 minutos para eliminar burbujas de aire. Posteriormente se tomaron 80 ml de solución stock de bis-acrilamida a la cual se le agregó 0.10 g de persulfato de amonio (AP). Para hacer 2 geles de 0.5 mm de espesor se tomaron 14 ml de esta solución y se le adicionaron 17.5 μl de tetrametiletilenediamina (TEMED) mezclando suavemente para evitar la formación de burbujas. De esta solución se inyectaron 7 ml en cada placa de vidrio y se dejó gelificar a temperatura ambiente. Los geles se utilizaron inmediatamente o bien se almacenaron en refrigeración a 4 ° C envueltos individualmente en una película plástica para evitar su deshidratación (de esta manera se conservaron en buenas condiciones hasta por seis semanas).

Por cada 100 μl de homogenizado se adicionaron 10 μl de glicerol para facilitar la deposición de la muestra hasta el fondo del pozo de los geles.

Adicionalmente se agregaron 5 μ l de azul de bromofenol al 5 % para su visualización al momento del sembrado. De cada muestra se tomaron 7 μ l para cargar el gel. En las cubetas de ánodo y cátodo de las celdas electroforéticas se utilizó el mismo amortiguador con el que se prepararon los geles (TME pH 7.8 diluido 1:10) y los ensayos electroforéticos se realizaron dentro de un refrigerador para electroforesis a una temperatura de 4 ° C.

Cabe señalar que en cada gel se intercalaron muestras de 5 organismos de diferentes poblaciones de manera que estuvieron representadas en un solo gel distintas poblaciones y/o especies. Asimismo cada población se colocó desfasada un sitio a la vez en geles consecutivos, esto con la finalidad de determinar con mayor precisión la posición de los diferentes alelos y loci y evitar sesgo en la lectura de los zimogramas. Este mismo procedimiento se realizó en los ensayos electroforéticos en geles de almidón.

Los ensayos electroforéticos en geles de BIS-poliacrilamida se realizaron en dos pasos. El primero con una duración de 20 minutos a 125 Voltios (V), 50 miliamperes (mA) y 15 watts (W) y su finalidad fue facilitar que las proteínas penetraran en el gel. El segundo paso con una duración de 3 horas a 95 V, 50 mA y 15 W y su objetivo fue separar las proteínas que ya han penetrado el gel.

Los sistemas enzimáticos ensayados en geles de poliacrilamida se enlistan en la Tabla V así como el tejido utilizado y el número de loci obtenidos.

Tabla V Sistemas enzimáticos utilizados en la electroforesis en geles de poliacrilamida para *Chione sp.*

Enzima	Abr.	Tejido	# loci
•Fosfatasa alcalina	ALP	gd	3
•Fosfogluconato deshidrogenasa	6PGDH ó PGD	gd	1
•Glucosa-6-fosfato isomerasa	GPI	m	2
•Malato deshidrogenasa	MDH	m	1
•Manosa fosfato isomerasa	MPI	m	1

Abr.= abreviatura, gd= glándula digestiva, m= músculo.

Electroforesis en geles de almidón.

Los geles se prepararon con almidón de papa hidrolizado a una concentración entre 10 y 12 %, dependiendo del número de lote y la calidad del almidón, así como del amortiguador utilizado para su elaboración.

En la Tabla VI se indica el amortiguador utilizado para cada análisis electroforético de acuerdo al sistema enzimático, así como también el tejido del cual se obtuvieron los homogenizados, las condiciones eléctricas y la duración de los ensayos electroforéticos. El sembrado de muestras siguió el mismo patrón de intercalado que las electroforesis de poliacrilamida.

Después de adicionar la solución de tinción con el sustrato específico para la enzima, se incubaron los geles a 37 ° C hasta que se observaron los

patrones de bandas (zimogramas). Posteriormente se retiró esta solución y se le adicionó una solución fijadora a base de metanol, ácido acético y agua destilada (3:1:6). Cada gel revelado con los patrones de bandas se fotografió con una cámara digital con la finalidad de registrar y posteriormente analizar los zimogramas.

Tabla VI Sistemas enzimáticos utilizados en la electroforesis en geles de almidón para *Chione sp.*

Enzima	Abr.	Tejido	# loci	Sistema	CE
•Enzima málica	ME	m	1		
•Isocitrato deshidrogenasa	IDH	m	2	TME 7.8	70 V 35 mAxC 50 watts 22 horas
•Hexoquinasa	HK	m	1		
•Esterasa D	ES-D	m	1		
•Esterasas	EST	m	2	TEC 6.5	50 mAxC 200 V 50 watts 4 horas
•Fosfoglucomutasa	PGM	m y gd	2		
•Leucina aminopeptidasa	LAP	m y gd	2	TEB 8.4	50 mAxC 200 V 50 watts 8 horas
•Fosfogluconato deshidrogenasa	6PGDH	m y gd	1	TEC 7.1	50 mAxC 200 V 50 watts 8 horas
•Superóxido dismutasa	SOD	m y gd	2	TEB 9.0	40 mAxC 200 V 50 watts 14 horas

Abr.= abreviatura, m= músculo, gd= glándula digestiva, CE= condiciones eléctricas, V= voltios, mAxC= miliamperes por celda.

Para la interpretación de los geles se utilizó la designación alélica A, B, C, etc. siendo el alelo A el que ha alcanzado la mayor distancia al ánodo desde el origen. En el caso de existir más de un locus, se le asignó el número 1 al locus más distante del origen (por ejemplo *Pgm-1*) y en seguida al locus con menor avance desde el origen se le asignó el número 2 (por ejemplo *Pgm-2*).

Análisis de datos genéticos.

Los resultados de los zimogramas se procesaron utilizando diferentes programas de cómputo. Con el paquete BIOSYS-1 versión 1.7 (Swofford y Selander, 1989) se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas, la heterocigosidad con sesgo (H), la heterocigosidad esperada (H_e) (Nei, 1978), la heterocigosidad observada (H_o), la deficiencia de heterocigotos (D) y la distancia genética de Nei (1978). Con el paquete TFPGA versión 1.3 (Miller, 1997) se evaluó el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (HW) utilizando la prueba χ^2 cuadrada y se construyeron los dendrogramas con las distancias genéticas de Nei (1978) mediante el análisis de agrupamiento UPGMA. Con el paquete GENEPOP 3.3 (Raymond y Rousset, 2001) se realizaron las pruebas para evaluar la diferenciación génica y genotípica entre poblaciones de una misma especie por medio del método de la Cadena de Markov.

Finalmente, con el programa TFPGA versión 1.3 (Miller, 1997) se calcularon los estadísticos F de Wright para todos los loci polimórficos de acuerdo al Método de Weir y Cockerham (1984): el coeficiente de endogamia

individual en relación a la subpoblación (F_{IS}), el coeficiente global de un individuo en relación a la población total (F_{IT}) y el índice de fijación (F_{ST}). Para estos coeficientes F se calcularon la varianza (*Jackknife*) y los intervalos de confianza al 95 % (*bootstrap*). Con el programa FSTAT versión 2.8 (Goudet, 1999) se calcularon los valores del coeficiente de endogamia (F_{IS}) para cada población y el nivel de significancia para todos los estadísticos F por población y por especie.

En cada caso al nivel de significancia se le aplicó la corrección de Bonferroni usando el método de Dunn-Šidák's: [$\alpha'' = (1 - (1 - 0.05)^{1/k})$]; donde k = es el número de pruebas (Sokal y Rohlf 1995), esto se hizo cuando los mismos organismos fueron usados para una prueba más de una vez.

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.

Obtención de los datos morfométricos.

Una vez que los organismos de las 11 poblaciones fueron disectados para obtener los tejidos destinados a los análisis genéticos, de cada individuo se obtuvo el peso del músculo aductor en una balanza analítica (*METTLER PM400*). Una vez extraído y pesado el tejido blando, las conchas de cada individuo se lavaron, etiquetaron y se midió el ancho de ambas valvas con un vernier (precisión $\pm 0.01\text{mm}$). Posteriormente se midieron el largo y alto solamente en la valva izquierda de acuerdo a la metodología utilizada por Roopnarine (1995).

Para el caso de las especies *C. californiensis*, *C. subimbricata* y *C. gnidia* se consideraron 11 mediciones morfométricas asociadas a cambios en la forma de las valvas así como a la orientación relativa de la bisagra o la cicatriz del músculo aductor (AB, AC, AD, CD, DG, EF, EG, FH, GH, GI y HI). Estas mediciones se realizaron de igual manera que el largo y alto, utilizando vernier y en valva izquierda (Figura 4). En el caso *C. cortezi* y *C. fluctifraga* se consideraron las medidas anteriores con excepción de AB, GI y HI debido a estas especies carecen de lúnula y estuche. Adicionalmente en estas dos especies se midió la distancia entre el umbo y el extremo final del ligamento (AJ).

Análisis de las mediciones morfométricas.

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente con el paquete Statistica (StatSoft, 2002) para calcular las medidas de tendencia central y de dispersión.

De acuerdo a lo reportado por Reimchen *et al.* (1985) se estandarizaron los datos para reducir el sesgo producido por las diferentes tallas. La estandarización consistió en dividir individualmente cada medida morfométrica entre el largo de la concha, obteniendo en cada caso proporciones morfométricas para las 11 poblaciones.

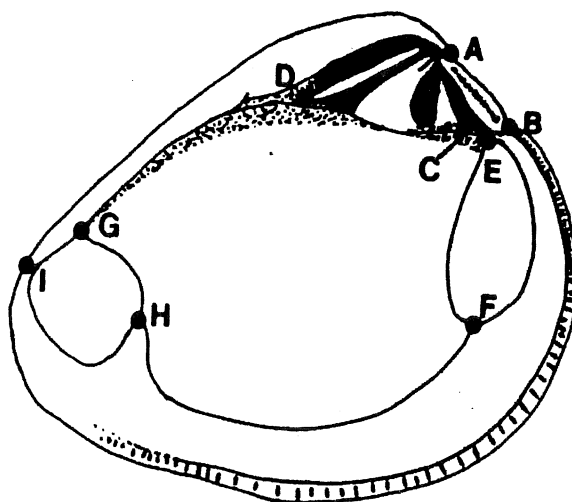


Figura 4. Valva izquierda de *Chione* indicando las estructuras que se midieron en el análisis morfométrico (Tomado de Roopnarine, 1995).

- A Umbo
- B Margen terminal ventral de la lúnula
- C Extremo anterior del diente cardinal anterior
- D Extremo posterior del diente cardinal posterior
- E Unión dorsal de la cicatriz del músculo anterior con la cavidad palial
- F Unión ventral de la cicatriz del músculo anterior con la línea palial
- G Unión dorsal de la cicatriz del músculo posterior con la cavidad palial
- H Unión ventral de la cicatriz del músculo posterior con la línea palial
- I Extremo ventral terminal del estuche

Nota: Las medidas morfométricas se tomaron entre los puntos AB, AC, AD, CD, DG, EF, EG, FH, GH, GI y HI

En los análisis subsecuentes se utilizaron los datos estandarizados: músculo (MUS), alto (AL), ancho (AN), AB, AC, AD, CD, DG, EF, EG, FH, GH, GI y HI para *C. californiensis*, *C. subimbricata* y *C. gnidia*. Para *cortezi* y *C. fluctifraga* se consideraron las medidas anteriores, excepto AB, GI y HI debido a

que como se mencionó previamente, carecen de lúnula y estuche. Adicionalmente para estas dos especies se consideró la proporción AJ.

Análisis de Funciones Discriminantes.

Antes de proceder a realizar el Análisis de Funciones Discriminantes (AFD) se verificaron las condiciones para aplicarlo tales como la normalidad (Kolmogorov-Smirnov, Chi cuadrada) y la Prueba de la Caja M para varianza-covarianza con el paquete Statistica (StatSoft, 2002).

Se utilizó la prueba estándar por pasos del AFD para identificar los caracteres de mayor importancia en la discriminación de los taxa. En primera instancia se realizó una AFD que incluyó a las once poblaciones de *Chione*. Posteriormente y de acuerdo a la agrupación de las poblaciones obtenida a partir del primer AFD, se realizaron tres AFD más como se expone en la sección de resultados.

En el análisis AFD se determinó además la separación de los grupos con base en el cálculo de las distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) con las cuales se construyó el dendrograma por medio del método UPGMA utilizando el programa MEGA ver 2.1 (Kumar *et al.*, 2001) con la finalidad de graficar las relaciones morfométricas entre especies y poblaciones.

Finalmente los dendrogramas obtenidos a partir de los análisis morfométricos se compararon con los generados de los análisis genéticos, de

esta manera se integraron ambos análisis para proponer un modelo filogenético para las especies analizadas.

IV. RESULTADOS.

ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO.

Origen de *Chione* spp.

El ancestro común tanto de *Chione* como de *Anomalocardia*, un género cercano, pudo haber evolucionado entre el Eoceno Temprano y Tardío (55 a 38Ma). Los primeros registros del género *Chione* datan del Oligoceno Temprano (38 Ma) en el Atlántico Occidental, permaneciendo en esta región hasta el Reciente, desde el Atlántico Occidental Tropical hasta el Pacífico Oriental.

El registro fósil ha revelado que los subgéneros de *Chione*, con excepción de *Chionista* e *Iliochione* se originaron en el Atlántico Occidental. Los primeros subgéneros *Lirophora* y *Puberella*, se originaron en el Atlántico Occidental durante el Oligoceno Temprano. Para el Plioceno Temprano, *Lirophora* alcanzó una distribución hasta el Pacífico Oriental y a mediados del Plioceno Temprano (5.2 - 2.5 Ma) registró una extinción importante en el Atlántico Occidental (Roopnarine, 1996).

El subgénero *Chionopsis* se originó en el Oligoceno Tardío en el Atlántico Occidental y estuvo ampliamente distribuido en el Atlántico y el Pacífico durante el Mioceno; sin embargo, se extinguió en el Atlántico hacia finales del Plioceno y quedó restringido en el Pacífico en donde habita en la actualidad (Roopnarine, 1996).

Chione s.s. y *Panchione* surgieron en el Mioceno Temprano en el Atlántico Occidental y durante el Plioceno Temprano se extendieron hacia el Pacífico Oriental. *Panchione* mostró una severa extinción en el Atlántico Occidental hacia mediados del Plioceno Temprano (5.2 - 2.5 Ma) y quedó restringida al Pacífico mientras que *Chione* s.s. permaneció en ambas costas de América (Roopnarine, 1996).

Los primeros registros fósiles de *Chionista* e *Ilioichione* datan del Plioceno Tardío en depósitos de Baja California (Roopnarine, 1996).

Biogeografía Histórica de *Chione* spp.

El área geográfica que ocupó este género en el pasado estuvo dentro de una región que presentó varios cambios oceanográficos y geológicos durante el Neógeno Tardío. Los eventos geológicos principales durante este periodo estuvieron relacionados al emergimiento del Istmo de Panamá que inició a mediados del Mioceno Temprano y a su cierre, ocurrido durante el Plioceno Temprano, así como al enfriamiento del Hemisferio Norte y a la disminución en los niveles de productividad del plancton. Todos estos factores influyeron de

manera importante en la diversidad, distribución y composición faunística del género (Roopnarine, 1996).

Oligoceno y Mioceno. Las especies de este género fueron muy abundantes en los suelos blandos y poco profundos del Atlántico y Pacífico Tropical de América y permanecieron así por lo menos hasta el Mioceno Temprano (Roopnarine, 1996).

Desde mediados del Mioceno hacia el Plioceno Temprano (16.3-5.2 Ma) existió un incremento continuo en la diversidad del Atlántico Occidental; en el Pacífico Oriental surgieron nuevas especies cuya longevidad fue superior a las del Atlántico y su tasa de extinción fue baja (Roopnarine, 1996).

El levantamiento del Istmo de Panamá durante el Mioceno Medio, hace 3 Ma, fue uno de los principales factores que influyó en la distribución actual de *Chione* (Roopnarine, 1996).

Plioceno. De acuerdo a Vermeij y Petuch (1986), durante el Plioceno América Tropical tenía diferenciadas dos provincias biogeográficas: la Provincia Caloosahatchiana (desde la Península de Florida hasta Carolina) y la Gatuniana conformada por el Atlántico Gatuniano (desde Nicaragua hasta Brasil) y el Pacífico Gatuniano (desde el Golfo de California hasta Perú) (Figura 5).

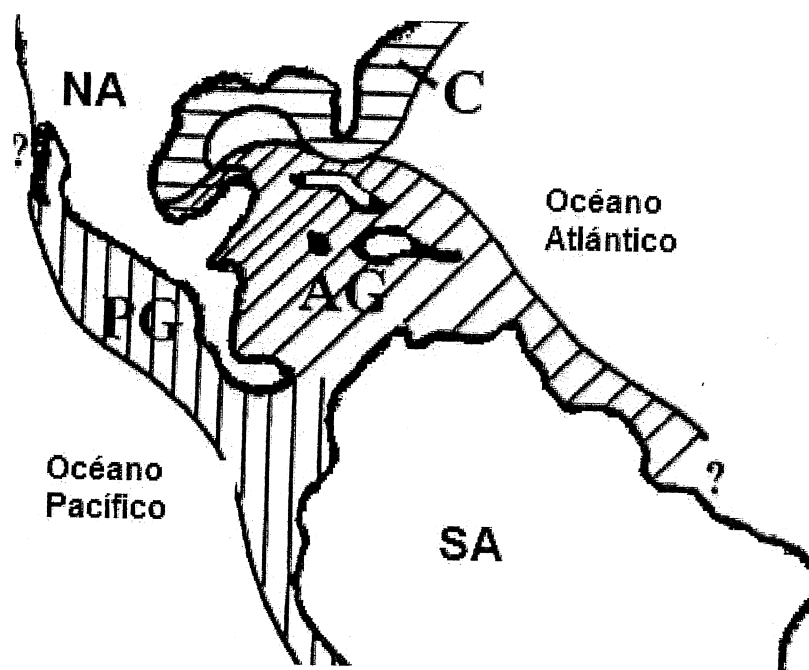


Figura 5 Regiones biogeográficas del Neógeno Tropical Americano.

C= Provincia Caloosahatchiana, AG= Provincia Gatuniana en el Atlántico, PG= Provincia Gatuniana en el Pacífico, SA= Sudamérica, NA= Norteamérica (Tomado de Roopnarine, 1997).

Antes del establecimiento de la porción central del Istmo, el Atlántico Gatuniano tenía una diversidad más alta de taxa que el Pacífico, y a su vez la Provincia Gatuniana era más diversa que la Provincia Caloosahatchiana (Vermeij y Petuch, 1986).

Durante el Plioceno, la diversidad y la distribución de los subgéneros cambió drásticamente ya que ocurrieron dos periodos de extinción.

El primero se dio durante entre el Plioceno Temprano y Medio, y afectó en mayor medida a los representantes de la Región del Atlántico Gatuniano (Vermeij y Petuch, 1986), el cual contaba con un mayor número de especies endémicas. En esta región, las extinciones probablemente ocurrieron después del cierre del Canal de Panamá, que inició hace aproximadamente 3.5 Ma (Vermeij, 1993), causando un descenso del nivel del mar de más de 100 m. Este evento produjo una fragmentación y aislamiento geográfico de las poblaciones que tenían una distribución amplia y continua.

Otro factor que pudo haber influido en la distribución de los taxa fue el cambio en la configuración oceanográfica en la región del Caribe, ya que alrededor del Plioceno Temprano (3.5 Ma) no había comunicación entre los Océanos Atlántico y Pacífico (Chirat, 2000) de manera que este evento ocasionó cambios sobre la diversidad local. La presencia estacional de aguas frías en el Caribe durante la mitad del Plioceno (contrario a la actualidad), la existencia de comunidades relicto en áreas del Caribe que están emergidas en el presente y la pérdida de especies de gran tamaño en el Atlántico Gatuniano, sugieren que hubo una intensa disminución en la productividad planctónica (Roopnarine, 1996). En esta etapa, *Lirophora* y *Panchione* experimentaron alrededor de 60 y 100 % de extinción respectivamente en el Atlántico Occidental; la proporción de especies reportadas al final de este periodo

excedió en gran medida al número de las primeras apariciones (Roopnarine, 1996).

En el Pacífico Oriental los niveles de extinción en el Plioceno Temprano-Medio y Tardío fueron de 57.1 y 11.1 %, respectivamente.

En el Atlántico Occidental, el nivel de extinción de las especies del Plioceno Temprano- Medio hacia el Plioceno Tardío fue del 50 % y se incrementó del Plioceno Tardío hacia el Pleistoceno en un 73.3 %. En el Atlántico Occidental se ha estimado que durante el Plioceno ocurrió un porcentaje global de extinción de 82.6 %, mientras que en el Pacífico Oriental fue de 38.5 % aproximadamente (Roopnarine, 1996).

En la segunda extinción que inició en el Plioceno Tardío, se vieron afectados tanto el Atlántico Gatuniano como la Provincia Caloosahatchiana. Por el contrario, la diversidad se incrementó en el Pacífico Oriental, sumado a la aparición de los subgéneros *Chionista* (exclusivo del Pacífico) e *Ilioichione* y el trío de especies compuesto por *Chione vaca-subimbricata-tumens*. En este periodo tanto *Chione*, *Chionopsis* como *Puberella* presentaron niveles elevados de extinción. El resultado actual de estos procesos es una mayor diversidad de especies en el Pacífico Oriental comparado con el Atlántico Occidental (Roopnarine, 1996).

En el Pacífico Oriental se registró una alta tasa de producción de especies durante el Post-Plioceno, se originaron 17 nuevas especies a diferencia del

Atlántico Occidental en donde los subgéneros individuales tuvieron altos niveles de extinción; se originaron solamente 7 nuevas especies (Roopnarine, 1996).

Los procesos que se han sugerido para explicar las extinciones en este periodo son la disminución en la productividad planctónica y el enfriamiento del Hemisferio Norte. Estos cambios ocurrieron durante el Plioceno Tardío (2.4 Ma) (Roopnarine, 1996).

Las extinciones en el Plioceno Tardío en el Atlántico Gatuniano coinciden con el inicio del enfriamiento del Hemisferio Norte (2.5-2.4 Ma). La única diferencia notable entre la fauna del Plioceno Tardío y la Reciente, además de la baja diversidad actual, es la ausencia de especies de tallas mayores de 40 mm de alto. Las especies grandes (30-35 mm) sobrevivieron en la región Caloosahatchiana y en áreas emergidas en el Caribe. Estas observaciones sugieren que la disminución en la productividad primaria pudo haber sido un proceso importante que produjo las extinciones, pero quizá éste no fue el único ni el principal factor (Roopnarine, 1996).

En la Tabla VII se presenta un resumen de los principales eventos relacionados en cada época geológica.

Tabla VII Épocas probables en las que se originaron las especies de *Chione* en el Pacífico Americano y principales eventos relacionados.

Épocas	Subgéneros	Evento
Reciente		Mayor diversidad en el Pacífico Oriental (21 sp) que en el Atlántico Occidental (13 sp).
Plioceno Tardío		82 y 38% de extinción global en el Atlántico Occidental y el Pacífico Oriental. Segunda etapa de extinción de los taxa del Atlántico Gatuniano y la Prov. Caloosahatchiana
	<i>Chionopsis</i> <i>Chione</i> y <i>Puberella</i> <i>Chionista</i> e <i>Ilioichione</i>	Se extingue del Atlántico Occidental. Sufrieron elevados niveles de extinción. Aparecen en depósitos de Baja California.
Plioceno Medio		Separación de los océanos, enfriamiento del Hemisferio Norte y disminución de la productividad. Incremento de la diversidad en el Pacífico Oriental. Calentamiento global.

Tabla VII

Continuación

Plioceno Temprano 5.2-2.5 Ma	<i>Lirophora y Panchione</i> <i>Chione, Chionopsis, Lirophora y Panchione</i> <i>C. vaca-subimbricata- tumens</i>	Probable cierre del Istmo de Panamá, fin de la circulación superficial (hace 3.5Ma). Eventos de enfriamiento. Severa extinción en el Atlántico Occidental. (60 y 100%, respectivamente). Presentes en el Pacífico Oriental. Primeros registros en Ecuador. Actual Golfo de California (4.3Ma). Presencia se estratos marinos en la parte Oeste del Golfo.
Mioceno Tardío 4.0-2.5 Ma		Periodo de calentamiento global. Cesa la circulación profunda Atlántico-Pacífico.
Mioceno Medio		Formación del Proto-Golfo de California (12–14 Ma). Invasión marina de la parte norte (13 Ma). Incremento en la diversidad. Inicio del levantamiento del Istmo de Panamá (>15.2Ma).
Mioceno Temprano	<i>Chione y Panchione</i> <i>Chionopsis</i>	Aparecen en el Atlántico Occidental. Ampliamente distribuido en Pacífico y Atlántico. Estratos marinos en la parte Este del Golfo.
Oligoceno Tardío	<i>Chionopsis</i>	Aparece en el Atlántico Occidental. Actividad volcánica en la porción Este del "Golfo". Flujo Oeste hasta la parte sur (permanecía cerrado) del actual Golfo.
Oligoceno Temprano	<i>Lirophora y Puberella</i>	Aparecen en el Atlántico Occidental.
Eoceno tardío		Evolución del ancestro común de <i>Chione</i> y <i>Anomalocardia</i> .

De los cinco subgéneros presentes en el Pacífico Oriental y Atlántico Occidental durante el Plioceno, todos sobreviven en la actualidad en el Pacífico Oriental, mientras que solo tres en el Atlántico Occidental; lo anterior corrobora el hecho de que las extinciones durante el Plioceno fueron más intensas en el Atlántico Occidental que en el Pacífico Oriental y que la disminución de la diversidad no se compensó con el origen de nuevas especies (Roopnarine, 1996).

Causas de las Extinciones del Neógeno Tardío en América Tropical.

Roopnarine (1996) sugiere que durante el Neógeno Tardío los subgéneros de *Chione* presentaron un patrón de extinción mayor en el Atlántico Occidental en comparación al Pacífico Oriental, hecho que se infirió a partir de la disminución a gran escala de la diversidad de moluscos en el Atlántico Oeste. Adicionalmente durante este periodo en el Pacífico Oriental se registró un mayor número de eventos de especiación.

Recientemente se propuso que la fauna actual de moluscos en el Atlántico Occidental fue tan diversa o aún más que la del Plioceno. Sin embargo, se ha demostrado que numerosos taxa de moluscos que estaban ampliamente distribuidos en el Atlántico Occidental están ahora restringidos al Pacífico Oriental o bien habitan en "refugios" en el mar Caribe (Roopnarine, 1996).

En relación al enfriamiento global que causó una disminución importante de los taxa de moluscos, Stanley (1984) propone una hipótesis en la cual señala la existencia de un gradiente de temperatura latitudinal al mismo tiempo en que ocurrió el enfriamiento. Previamente al evento de enfriamiento, este gradiente pudo haber permitido el desarrollo de provincias faunísticas templadas y tropicales. Las biotas templadas pudieron migrar hacia latitudes ecuatoriales durante el enfriamiento global, a diferencia de las biotas tropicales que probablemente no tuvieron disponibles "refugios". No obstante, las provincias pudieron haber estado compuestas de taxa estenotérmicos y euriotérmicos lo que permitió una supervivencia diferencial de algunos taxa (Roopnarine 1996).

Durante el Plioceno Medio hubo un periodo de calentamiento global y las Provincias Gatuniana y Caloosahatchiana fueron más cálidas que otras regiones contemporáneas, quizá igual o más templadas que en la actualidad. Las aguas Gatunianas fueron más calientes que las Caloosahatchianas, alrededor de 10 ° C en invierno y 6 ° C en verano (Figura 5).

En contraposición a la hipótesis anterior, se ha propuesto otra teoría que no está basada en eventos geológicos, si no que se sustenta en una importante disminución de la productividad. Petuch (1982) ha identificado faunas relictas de moluscos del Reciente pero con afinidades del Mioceno-Plioceno en aguas cálidas de alta productividad planctónica (Venezuela). Con base en esto, infiere que dichas faunas posiblemente tuvieron una amplia distribución geográfica en

estas regiones durante el Mioceno, cuando el Caribe estaba dominado por estas comunidades.

Allmon *et al.* (1993) propusieron que la disminución de la productividad causó la pérdida de la riqueza faunística de moluscos del Plioceno en el Sur de Florida. Estos hechos indicaron que la disminución en la productividad pudo haber conducido a niveles de extinción distintos en las áreas biogeográficas debido a que dichos fenómenos ecológicos fueron más intensos en algunas regiones que en otras. Así, los cambios en la comunidad planctónica, pudieron afectar en gran medida al resto de la comunidad, por ejemplo, los habitats más productivos suelen tener más especies que los menos productivos, probablemente porque la elevada productividad aporta los recursos para un mayor número de especies (Mc Arthur, 1965). Esta generalización no puede evaluarse con el registro fósil, sin embargo, se puede hacer indirectamente a través de las comunidades de bivalvos que consumieron el plancton. Una forma alternativa de tener una aproximación más directa acerca de la productividad en el pasado es mediante la evaluación del tamaño de los organismos en el registro fósil ya que como lo señaló Vermeij (1978), los moluscos de habitats más productivos generalmente tienen tasas de crecimiento mayores.

De acuerdo con lo anterior, se apoya la hipótesis de que probablemente en el Atlántico Occidental los niveles de extinción fueron más elevados, comparados con el Pacífico Oriental. Sin embargo, algunos autores (Allmon *et al.*, 1993; Jackson *et al.*, 1993) sugieren que los procesos de especiación fueron quizá la causa de una aparente extinción (pseudoextinción) de ciertos

taxa en el Atlántico Occidental, mientras que en el Pacífico Oriental la tasa de formación de géneros fue más elevada.

A continuación se presenta en forma más detallada la paleobiogeografía de *Chione* en la Península de Baja California sustentándola con base en la investigación bibliográfica y en los bancos de datos disponibles, así como en el registro fósil publicado en diferentes fuentes.

Biogeografía Histórica de las especies intermareales en la Península de Baja California.

Aún cuando se cuenta con el extenso trabajo desarrollado por Roopnarine (1996), quien abarcó un considerable número de especies y subgéneros de *Chione*, falta por profundizar sobre el conocimiento de la historia biogeográfica de las especies intermareales de *Chione*. Esta es una labor difícil ya que el registro fósil es escaso, discontinuo y en su mayoría a nivel de subgéneros además de que, en la mayoría de las ocasiones se dispone de escasa información particular de cada especie.

Con base en la información disponible y mediante un análisis en el cual se integra toda esta información, se propone una hipótesis complementaria a la de Roopnarine en la cual se explican los eventos geológicos que ocurrieron en el pasado y que pudieron haber influido en el proceso de colonización y expansión geográfica de las especies intermareales de *Chione* en la Península de Baja California. Con base en lo anterior se sugieren los tipos de especiación que

probablemente pudieron haber ocurrido y que dieron lugar a las especies actuales.

Para este análisis se consideraron únicamente las especies intermareales que, de acuerdo a la clasificación de Keen (1971), pertenecen a cuatro subgéneros: *Chionopsis* (*C. gnidia* y *C. pulicaria*), *Chione* (*C. californiensis*, *C. subimbricata*, *C. tumens* y *C. undatella*), *Chionista* (*C. cortezi* y *C. fluctifraga*) e *Ilioichione* (*C. subrugosa*). Para realizar el análisis de la biogeografía histórica de *Chione* se consideró el trabajo de Roopnarine (1996) en el cual *Chionopsis* e *Ilioichione* son considerados como géneros; sin embargo, bajo un criterio más conservador en esta investigación se mantiene el criterio de clasificación de Keen para estos taxa.

De los cuatro subgéneros considerados en esta sección, el subgénero más antiguo, *Chionopsis*, surgió en el Oligoceno Tardío en el Atlántico Occidental (Roopnarine, 1996). Sin embargo este autor no explicó como es que este subgénero alcanzó una distribución hasta el Pacífico durante el Mioceno. Al considerar la información geológica y las paleocorrientes (Chirat, 2000), en esta investigación se propone como hipótesis que este subgénero pudo haber extendido su distribución durante el Mioceno Temprano hasta el Pacífico Oriental debido a que durante el Oligoceno Tardío existía flujo oceánico Atlántico-Pacífico (Chirat, 2000), lo que le permitió ampliar su distribución. Adicionalmente, *Chionopsis* pudo colonizar el Proto-Golfo que estaba en formación debido al flujo de agua marina desde el Sur del Océano Pacífico. Al

emerger Centro América y adquirir la geografía actual, las poblaciones quedaron aisladas debido a esta barrera geográfica durante el Plioceno Temprano y es muy probable que ocurrieran eventos de especiación alopátrica dentro de este subgénero. Para el Plioceno Tardío se produjo la extinción de este subgénero en el Atlántico Occidental persistiendo poblaciones en el Pacífico Oriental aun en la actualidad, cuyos representantes son *C. amathusia*, *C. crenifera*, *C. gnidia*, *C. jamaniana*, *C. montezuma*, *C. olssoni*, *C. ornattisima*, *C. pulicaria* y *C. purpurissata*.

Las especies intermareales actuales *C. gnidia* y *C. pulicaria* es muy probable que se hayan distribuido en las costas de la Península de Baja California desde el Mioceno; sin embargo, sólo se cuenta con un reporte de *C. gnidia* del Pleistoceno en Bahía de Santa Inés, Baja California Sur (Hertlein, 1957).

Un segundo evento de especiación, en este caso simpátrico o parapátrico es probable que ocurriera después de la especiación alopátrica anteriormente mencionada, cuando los representantes de este subgénero ya estaban ampliamente distribuidos en el Pacífico. Esto es posible inferirlo, a partir de la distribución de las especies vivientes. De los representantes actuales, *C. gnidia* se especula que es una especie más antigua que *C. pulicaria* ya que tiene una distribución actual más amplia y que coincide con la extensa distribución de este subgénero durante el Mioceno-Plioceno.

Chione s.s. apareció en el Atlántico Este en el Mioceno Temprano (Roopnarine, 1996) y de acuerdo a la actual distribución de las especies vivientes, es probable que el ancestro inmediato de las especies actuales de este subgénero haya extendido su distribución hacia el Pacífico Oriental antes de que emergiera Centro América en el Plioceno Temprano dando lugar posteriormente, a un proceso de especiación alopátrica.

Lo anterior se propone como una hipótesis complementaria para explicar la distribución del subgénero *Chione* en el Golfo de California y en la Península. No obstante, es pertinente aclarar que al igual que en *Chionopsis*, Roopnarine no explicó en su trabajo como ocurrió la expansión de este subgénero hacia el Pacífico Oriental y como sucedió la diversificación que originó al número de especies actuales. Es probable que hayan ocurrido eventos de especiación simpátrica o parapátrica una vez que este subgénero ya habitaba en el Pacífico y la comunicación entre ambos océanos había cesado.

Lo anterior se sustenta con los hallazgos fósiles de *C. subimbricata*, *C. californiensis* y *C. undatella* (*Chione* s.s.) en el Plioceno Temprano (Ecuador, Baja California y en San Diego California, respectivamente) (Roopnarine, 1996) y la evidencia fósil de *C. tumens* en el Plioceno en Baja California (Roopnarine, 1996) y en Bahía San Antonio, Baja California Sur, en el Pleistoceno (Johnson y Ledesma, 1999).

En relación a los subgéneros *Chionista* e *Iliochione*, éstos se registran en los depósitos de Baja California que datan del Plioceno Tardío (Roopnarine,

1996). Previo a este periodo, se plantea que estos subgéneros evolucionaron de los subgéneros del Atlántico Occidental que se dispersaron hacia el Pacífico Oriental, antes del cierre del Istmo de Panamá durante el Plioceno Temprano. Los registros más antiguos *C. fluctifraga* (*Chionista*) y *C. subrugosa* (*Ilioichione*) provienen de estratos del Plioceno Tardío en Baja California. No obstante de la escasa información de la que se dispone y debido a que para ninguna de estas especies se han encontrado registros fósiles más antiguos, se puede proponer que quizá *Chionista* s. s. (*C. fluctifraga* y *C. cortezii*) e *Ilioichione* (*C. subrugosa*) incursionaron en el Golfo de California una vez que este adquirió su conformación actual durante el Plioceno Temprano.

En la Tabla VIII se presenta un resumen de las especies fósiles de *Chione* que habitaban el Pacífico Americano desde el Plioceno hasta el Pleistoceno.

Tabla VIII Especies fósiles de *Chione* en el Pacífico Americano. Se indica para cada especie la época, localidad y referencia bibliográfica.

Época	Especie	Localidad	Referencia
Pleistoceno superior	<i>C. tumens</i>	Bahía San Antonio (B.C.S.)	Johnson y Ledesma, 1999.
	<i>C. californiensis</i>	Bahía San Antonio (B.C.S.)	Johnson y Ledesma, 1999.
Pleistoceno	<i>C. californiensis</i>	Punta el Pulpito (B.C.)	Hertlein, 1957.
	<i>C. californiensis</i>	Playa La Palmita (B.C.S.)	Libbey y Johnson, 1997.
	<i>C. undatella</i>	Bahía de Santa Inés (B.C.S.) e Isla del Carmen (Golfo de California).	Hertlein, 1957.
	<i>C. undatella</i>	Isla María Madre, Laguna de San Ignacio (B.C.S.)	Hertlein, 1934.
	<i>C. gnidia</i>	Bahía de Santa Inés (B.C.S.)	Hertlein, 1957.
	<i>C. gnidia</i>	Laguna de San Ignacio (B.C.S.)	Hertlein, 1934.
	<i>C. succincta</i>	Isla María Madre, I. Ma. Magdalena, Laguna de San Ignacio (B.C.S.)	Hertlein, 1934.
	<i>C. mariae</i>	Isla María Madre	Hertlein, 1934.
Plioceno Tardío	<i>C. californiensis</i>	Baja California Sur	Roopnarine, 1996.
	<i>C. undatella</i>	San Diego (California)	Roopnarine, 1996.
	<i>C. tumens</i>	Baja California	Roopnarine, 1996.
	<i>C. fluctifraga</i>	Baja California	Roopnarine, 1996.
	<i>C. subrugosa</i>	Baja California Sur	Roopnarine, 1996.

Análisis de la Distribución Geográfica de las especies actuales de *Chione* en la Península de Baja California.

El género *Chione* comprende especies extintas y actuales, de estas últimas existen 21 especies distribuidas en el Pacífico Oriental y 13 especies en el Atlántico Occidental.

Las especies actuales de *Chione* están restringidas en su distribución latitudinal por la temperatura y su área de distribución no va más allá de las regiones tropicales y subtropicales (Roopnarine, 1996).

En el presente análisis se analizó la distribución geográfica de las especies de *Chione* que habitan en zonas intermareales y submareales (hasta 90 m) y que se distribuyen desde la Península de Baja California hasta el Sur de Perú. Estas especies fueron *C. californiensis*, *C. cortezi*, *C. fluctifraga*, *C. gnidia*, *C. pulicaria*, *C. subimbricata*, *C. subrugosa*, *C. tumens* y *C. undatella*. Para cada una de estas especies se ubicó su distribución geográfica tomando en cuenta los reportes de diferentes autores, en la Tabla IX se condensa la información recopilada acerca de la distribución así como el tipo de habitat en el que se encuentran estas especies.

Tabla IX Distribución geográfica y tipo de hábitat de las especies intermareales de *Chione* en el Pacífico Americano.

Especie	Distribución geográfica actual	Hábitat
<i>C. californiensis</i>	Punta Mogu, Ca. – Panamá ¹ . San Pedro, Ca – Panamá ² . Goleta, Ca-Perú (18°S-34°N) ³ . Sn Fco.Ca -(37.7°N) – Golfo de California – Sur de Acapulco (16.9°N) ⁴ .	Intermareal en planicies arenosas a marea baja y en mar abierto hasta profundidades de 69m en fondos lodosos ¹ . Hasta 50 m ⁴ .
<i>C. subimbricata</i>	La Paz y Guaymas (Golfo de California) - Paita, Perú ¹ . Baja California - Perú ² .	Intermareal y en mar abierto hasta profundidades de 9m ¹ .
<i>C. subrugosa</i>	Bahía Magdalena, B. C. - Golfo de California - Sur de Perú ^{1,2} . Incluye Islas Galápagos, Ecuador ³ .	Lagunas o en planicies lodosas ¹ .
<i>C. undatella</i>	Sur de California - Paita, Perú ¹ San Pedro, Ca - Panamá ² . Goleta, Ca (34.4°N) - Perú. Incluye Islas Galápagos (1.0°S), Ecuador ^{3, 4} .	Playas arenosas protegidas y en mar abierto a profundidades de 90m ¹ .
<i>C. gnidia</i>	Isla de Cedros, B. C. - Golfo de California - Sur de Paita, Perú ^{1,2} .	Bahías y en mar abierto a profundidades de 33 m ¹ .
<i>C. pulicaria</i>	Golfo de California - Tumaco, Colombia ^{1,2} .	Barras arenosas y en mar abierto a profundidades de 18m ¹ .

Tabla IX Continuación

<i>C. fluctifraga</i>	San Pedro, Ca - Golfo de California (Guaymas, Son.) ^{1, 2} . Laguna Mogu, Ca - Golfo de California. Se extiende hasta Laguna de Agiabampo, Son/Sin ³ . Sta Bárbara, Ca (34.4°N) - Golfo de California -Bahía Guásimas, Sonora (27.8°N) ⁴ .	Intermareal ¹ . Intermareal hasta 25m ⁴ .
<i>C. tumens</i>	Restringida a la parte sur de la costa externa de B. C. y al Golfo de California ¹ .	Intermareal hasta 10m ³ .
<i>C. cortezi</i> *	Pacífico de Baja California (cerca de Bahía Magdalena) - San Felipe - Guaymas (Tipo) ¹ .	Intermareal ¹ .

¹ Keen, 1971. ² Abbot, 1974. ³ Skoglund, 1991. ⁴ Coan *et al.* 2000.

*Villarreal *et al.* (1999) reportaron que *C. cortezi* se distribuye actualmente en el Alto Golfo.

De acuerdo a las provincias biogeográficas establecidas para invertebrados bentónicos marinos (Vermeij, 1980), en esta investigación son analizadas nueve especies intermareales de *Chione* que habitan desde la Provincia Californiana hasta la Peruana. Esto abarca un intervalo latitudinal entre los 34 ° N y los 18 ° S, lo cual concuerda con lo señalado por Roopnarine (1996) sobre la distribución de estas especies en regiones y áreas templado-cálidas, subtropicales y tropicales. El género *Chione* no posee con representantes en aguas templado-frías y frías del Pacífico Oriental (Tabla X).

Las causas de esta distribución pueden estar determinadas, en parte por la influencia de diversos factores oceanográficos como son los patrones de circulación superficial oceánica, isotermas superficiales y tipo de sustrato en el cual habitan las especies del género. De acuerdo a esto, Vermeij (1978) señaló que los límites actuales de las provincias faunísticas de moluscos están asociados a gradientes de temperatura, así como también a barreras de circulación oceánica.

Las especies *C. californiensis* y *C. subimbricata* son las que tienen la mayor amplitud geográfica con 61 y 59 °, respectivamente; le siguen *C. subrugosa* y *C. undatella* ambas con 52 ° de amplitud. Las especies de menor amplitud geográfica son *C. gnidia* con 42 °, *C. pulicaria* con 30 °, *C. fluctifraga* con 20 °, *C. tumens* con 10 ° y finalmente *C. cortezi* con 3 ° de amplitud geográfica (Tabla X).

Tabla X Distribución latitudinal de las especies de *Chione* analizadas en este estudio.

Especie	Límites latitudinales	Provincias* y Áreas **	Amplitud Geográfica
<i>C. californiensis</i>	Pac: 34 ° N - 18 ° S Gol: 32 ° N - 23 ° N	Cal-Mex-Pan-Gal-Per Cor: AGol-BGol	61 °
<i>C. subimbricata</i>	Pac: 32 ° N - 18 ° S Gol: 32 ° N - 23 ° N	Cal-Mex-Pan-Gal-Per Cor: AGol-BGol	59 °
<i>C. subrugosa</i>	Pac: 25 ° N - 18 ° S Gol: 32 ° N - 23 ° N	Mex-Pan-Gal-Per Cor: AGol-BGol	52 °
<i>C. undatella</i>	Pac: 34 ° N - 18 ° S	Cal-Mex-Pan-Gal-Per	52 °
<i>C. gnidia</i>	Pac: 28 ° N - 5 ° S Gol: 32 ° N - 23 ° N	Cal-Mex-Pan Cor: AGol-BGol	42 °
<i>C. pulicaria</i>	Pac: 23 ° N - 2 ° N Gol: 32 ° N - 23 ° N	Mex-Pan Cor: AGol-BGol	30 °
<i>C. fluctifraga</i>	Pac: 34 ° N - 23 ° N Gol: 32 ° N - 23 ° N	Cal-Mex Cor: AGol-BGol	20 °
<i>C. tumens</i>	Pac: 24 ° N - 23 ° N Gol: 32 ° N - 23 ° N	Mex Cor: AGol-BGol	10 °
<i>C. cortezi</i>	Gol: 32 ° N - 29 ° N	Cor: AGol	3 °

* Provincias Biogeográficas: Cal= Californiana, Mex= Mexicana, Cor= Cortesiana, Pan= Panámica, Gal= Galápagos, Per= Peruana.

** Áreas Biogeográficas: AGol= Alto Golfo de California, BGol= Bajo Golfo de California.

En referencia a la especie *C. cortezi*, ésta se distribuye en el Pacífico Oriental, desde Bahía Magdalena hasta Guaymas en el Golfo de California (Keen, 1971); sin embargo, Villarreal-Chávez *et al*, (1999) la precisan exclusivamente en el Alto Golfo de California. De acuerdo con lo anterior, el factor que muy probablemente limitaría su distribución al sur sería la llamada “Barrera de Islas” que es una zona que comprende el Canal de Ballenas y las Islas Tiburón y Ángel de la Guarda. En esta zona la temperatura superficial de invierno fluctúa entre 14 y 16 ° C mientras que en el resto del Golfo, la variación máxima de temperatura supera los 16 ° C alcanzando hasta los 20 ° C en los meses más cálidos (Correa y Carvacho, 1992) (Figura 6).

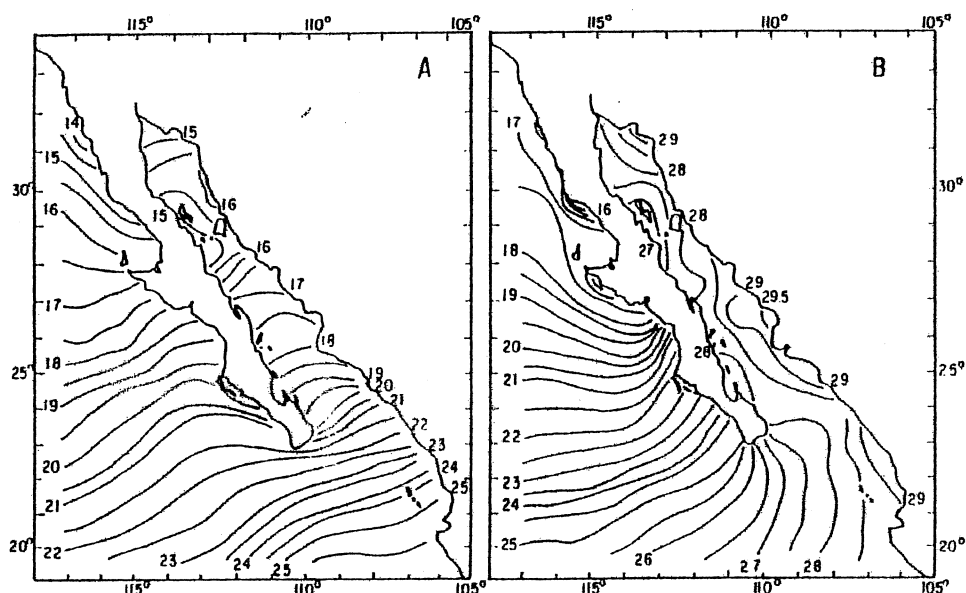


Figura 6 Temperaturas medias superficiales del mar en enero (A) y en julio (B) en el Golfo de California (Tomado de Correa y Carvacho, 1992).

Otro factor que probablemente restrinja su distribución al Alto Golfo es el tipo de sustrato, ya que en esta área el fondo es de tipo arenoso mientras que en el Bajo Golfo es de tipo arcilloso (Correa y Carvacho, 1992).

De acuerdo a su limitada distribución geográfica y a la ausencia de registros que indiquen su presencia en otras latitudes, se deduce que esta especie es endémica. Además al carecer de un registro fósil que indique el periodo geológico en el cual apareció, se puede proponer como hipótesis que esta especie es de origen reciente y por lo tanto neoendémica.

En el caso de las especies *C. californiensis*, *C. fluctifraga*, *C. subimbricata* y *C. undatella*, un factor común que incide sobre la distribución geográfica de sus poblaciones es la corriente de California (Figura 7) que impide la incursión de estas especies por arriba de los 34 ° N. Esta corriente transporta aguas frías y de baja salinidad a lo largo de la costa Pacífico Oriental hasta la porción sur de la Península de Baja California. Es muy probable que este factor también impida la distribución de *C. gnidia*, *C. pulicaria*, *C. subrugosa* y *C. tumens* hacia latitudes más septentrionales.

Además de la corriente de California, se suman como factores limitantes para las especies *C. californiensis*, *C. fluctifraga*, *C. subimbricata* y *C. undatella* la isoterma de invierno de 15 ° C (Figura 8) frente a las Costas de California.

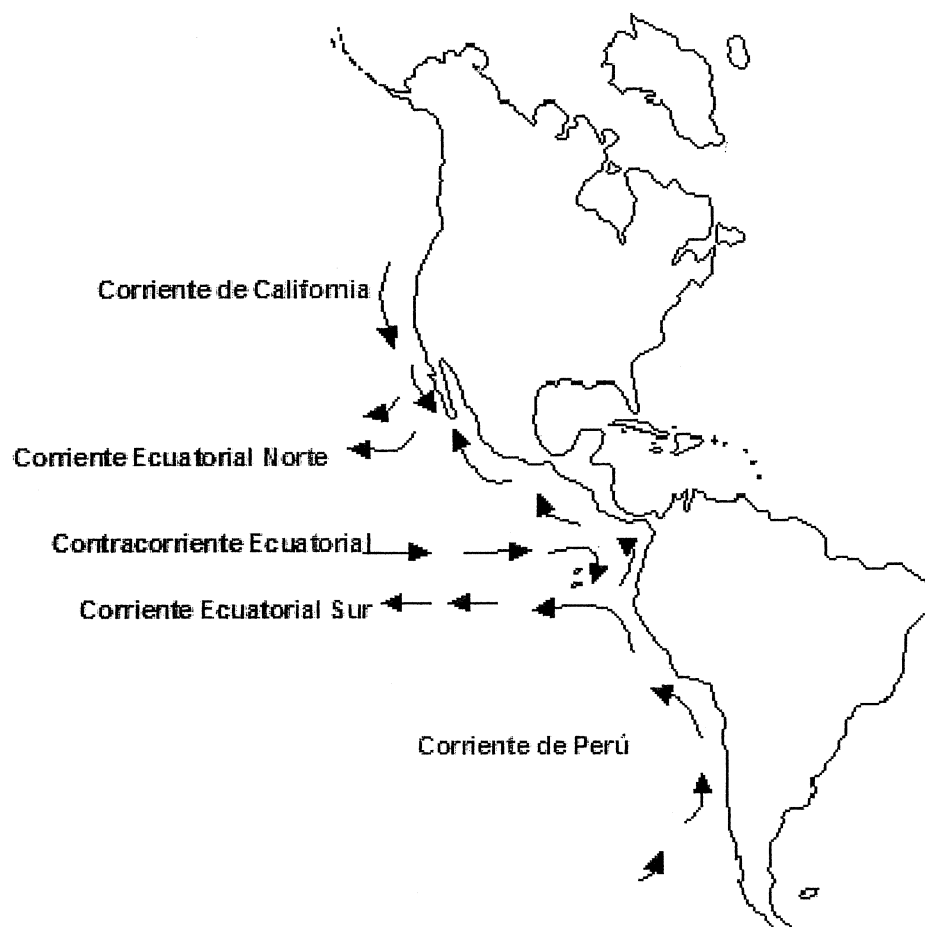


Figura 7 Patrón general de circulación superficial oceánica en el Pacífico Oriental Americano (Tomado de Tchernia, 1980).

Las especies *C. californiensis*, *C. fluctifraga*, *C. gnidia*, *C. pulicaria*, *C. subimbricata* y *C. subrugosa* se introducen en el Golfo de California gracias a la Corriente Costera de Costa Rica conformada por aguas tropicales que fluyen hacia el norte.

La especie *C. tumens*, con amplitud geográfica de tan sólo 10 ° y que tolera las variaciones en temperatura y salinidad del Golfo, es posible que la Corriente Costera de Costa Rica impida su dispersión por abajo de los 23 ° N de la misma manera que para *C. fluctifraga*.

Las especies que tienen una amplia distribución tanto en el Pacífico Oriental así como en el Golfo de California son *C. subrugosa*, *C. gnidia* y *C. pulicaria*. Las primeras dos especies tienen un patrón de distribución similar, con la salvedad de que *C. gnidia* se extiende 3 ° más hacia el Norte y 13 ° más hacia el Sur. Las especies *C. subrugosa* y *C. tumens* es posible que estén restringidas al Norte por la isoterma de invierno de 20 ° C, localizada frente a Baja California Sur, y por la corriente de California con dirección Norte a Sur.

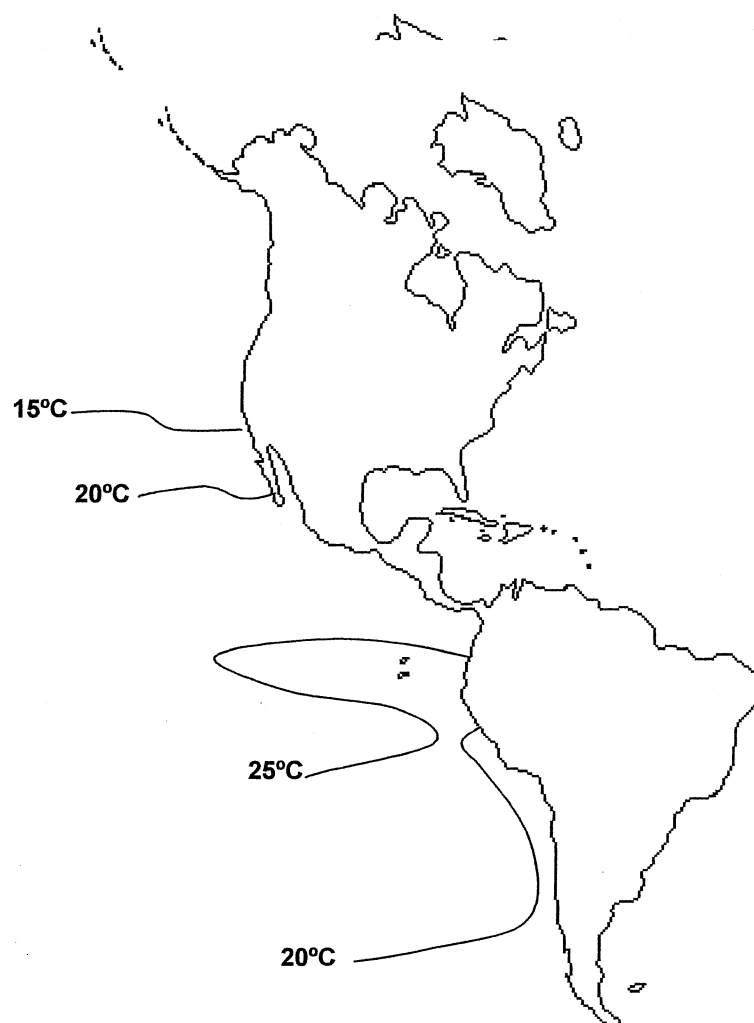


Figura 8 Isothermas superficiales de invierno en el Pacífico Oriental Americano (Tomado de Tchernia, 1980).

La especie *C. tumens* se distribuye ampliamente en el Golfo y rodea el extremo sur de la Península hasta Bahía Magdalena por la vertiente del Pacífico. Es importante puntualizar que en la zona de transición entre la Boca del Golfo y la porción sur de la Península de Baja California ocurren mezclas de masas de agua superficial tropical, de agua intermedia del Pacífico y de agua profunda del Pacífico Oriental. Bajo estas condiciones esta especie se ha adaptado, lo cual seguramente ha facilitado su introducción hacia el Golfo de California sumándose a éstas la dirección de la Corriente de Costa Rica en sentido Sur a Norte.

En referencia a los factores que acotan la distribución geográfica a latitudes más australes, se tiene el caso de las especies *C. subimbricata* y *C. subrugosa* siendo el factor limitante la isoterma de 20 ° C de invierno, frente a las costas de Perú (Figura 8). De la misma manera que para las especies *C. gnidia* y *C. pulicaria* lo es la isoterma de verano de 20 ° C (Figura 9). Para estas cuatro especies es posible su delimitación al sur esté influida por la dirección Sur a Norte de la corriente de Perú (Figura 7) de la misma forma en que actúa para las especies *C. californiensis* y *C. undatella*.

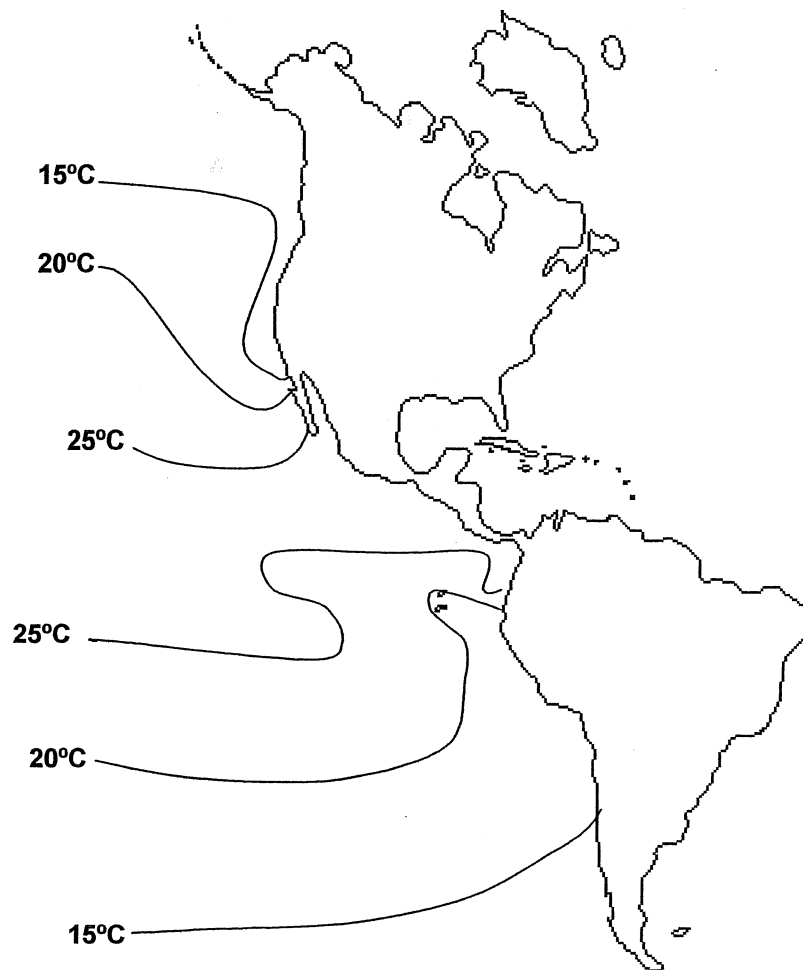


Figura 9 Isotermas superficiales de verano en el Pacífico Oriental Americano (Tomado de Tchernia, 1980).

ANÁLISIS GENÉTICO.

Los resultados correspondientes a los análisis genéticos se presentan agrupando a las especies que pertenecen a un mismo subgénero tomando en consideración el criterio de Keen (1971). De esta manera se inicia con las especies *C. californiensis* y *C. subimbricata* (subgénero *Chione*), en seguida las especies *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.* (subgénero *Chionista*) y finalmente la especie *C. gnidia* (subgénero *Chionopsis*).

Frecuencias alélicas para *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

Las frecuencias alélicas de los 21 loci analizados para las poblaciones de *C. californiensis* y *C. subimbricata* se presentan en la Tabla XI. Aún cuando en los análisis electroforéticos se probaron todos los organismos obtenidos en los muestreos, en algunos casos el número de organismos con tinción positiva fue bajo. Tal fue el caso de *Alp-1* (poblaciones CaliSC y CaliLP), *Alp-2* (población CaliLA), *Es-D* (población Sub), *Idh-1* (poblaciones CaliSC y CaliLP), *Mdh* (población Sub), *Pgm-1* (población CaliSC), *Pgm-2* (población CaliSC), *Sod-2* (población CaliLA) y *6Pgdh* (poblaciones CaliSC y CaliLP). Sin embargo, estos resultados se incluyeron en todos los cálculos de las medidas de variabilidad genética, debido a que se consideran de gran importancia biológica pues hasta

la fecha son los primeros resultados referentes a análisis alozímicos reportados para estas especies.

La mayoría de los loci mostraron una composición alélica similar en las tres poblaciones de *C. californiensis*, a excepción de *Mdh* ya que en la población CaliLA solamente se encontraron los alelos *Mdh*^B y *Mdh*^C, mientras que tuvo representados los alelos *Mdh*^A, *Mdh*^B, *Mdh*^C y *Mdh*^D en la población CaliSC y los alelos *Mdh*^C y *Mdh*^D en la población CaliLP. Para *C. subimbricata* en este locus revelaron únicamente los alelos *Mdh*^C y *Mdh*^D (Tabla XI).

En *C. californiensis* el alelo de mayor frecuencia (más común) fue diferente entre poblaciones; por ejemplo, en *Alp-1* el alelo más común en las poblaciones CaliSC y CaliLP fue el alelo *Alp-1*^B y *Alp-1*^A, respectivamente. En *Es-D*, el alelo más común fue el *Es-D*^A en las poblaciones CaliLA y CaliLP, mientras que el alelo *Es-D*^B fue más común en la población CaliSC. Resultados similares se obtuvieron en *Idh-2*, *Lap-2*, *Mdh*, *Mpi*, *Pgi* y *Sod-1* (Tabla XI).

En *C. subimbricata* la frecuencia del alelo más común en *Sod-1* fue superior a 0.9 (*Sod-1*^A) mientras que para *C. californiensis* su frecuencia no rebasó 0.521, debido a esta situación este loci puede considerarse como diagnóstico para diferenciar estas dos especies.

Se observó que algunos loci no mostraron patrones de bandeo en los geles donde se habían depositado muestras de *C. subimbricata* mientras que si se observaron para la especie *C. californiensis*; este fue el caso de los loci *Alp-1*, *2* y *3*, *Hk*, *Idh-1*, *Lap-1* y *2*, *Mpi* y *Pgm-1*, *2* y *3* (Tabla XI).

Tabla XI Frecuencias alélicas, probabilidad para el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (HW) y coeficiente de endogamia (F_{IS}) para *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

		Poblaciones			
		CaliLA	CaliSC	CaliLP	Sub
Organismos analizados		24	36	36	26
Locus	Alelo				
Alp-1	N		6	6	
	A		0.417	0.583	
	B		0.583	0.417	
	HW		0.944	0.944	
	F _{IS}		0.063	0.063	
Alp-2	N	4	17	11	
	A	0.250	0.412	0.273	
	B	0.750	0.588	0.727	
	HW	0.505	0.906	0.214	
	F _{IS}	-0.200*	0.059	-0.333*	
Alp-3	N	24	38	26	
	A	0.500	0.487	0.519	
	B	0.500	0.513	0.481	
	HW	0.414	0.051	0.018	
	F _{IS}	-0.146	-0.305	-0.448	
Est-2	N	22	45	50	24
	A	0.545	0.644	0.510	0.438
	B	0.455	0.356	0.490	0.563
	HW	0.696	0.840	0.024	0.243
	F _{IS}	0.106	0.016	0.329	0.258
Est-3	N	22	49	58	26
	A	0.477	0.480	0.431	0.346
	B	0.523	0.520	0.569	0.654
	HW	0.0000♣	0.0000♣	0.0000♣	0.067
	F _{IS}	-0.909*	-0.871*	-0.754*	-0.342

Tabla XI Continuación

Locus	Alelo	Poblaciones			
		CaliLA	CaliSC	CaliLP	Sub
Es-D	N	13	19	20	7
	A	0.615	0.447	0.725	0.357
	B	0.385	0.553	0.275	0.643
	HW	0.928	0.041	0.005	0.860
	F _{IS}	0.065	0.427	0.639*	0.143
Hk	N	17	21	37	
	A	0.059	0.048	0.284	
	B	0.618	0.857	0.554	
	C	0.324	0.095	0.162	
	HW	0.093	0.900	0.0005♣	
	F _{IS}	0.448	-0.101*	0.412*	
Idh-1	N		7	4	
	A		0.286	0.375	
	B		0.714	0.625	
	HW		0.427	0.230	
	F _{IS}		0.327	-0.500*	
Idh-2	N	17	25	47	26
	A	0.559	0.180	0.383	0.654
	B	0.441	0.820	0.617	0.346
	HW	0.008	0.797	0.0002♣	0.336
	F _{IS}	0.660*	0.121	0.557*	-0.171
Lap-1	N	24	49	54	
	A	0.458	0.347	0.500	
	B	0.542	0.653	0.500	
	HW	0.0009♣	0.487	0.003	
	F _{IS}	-0.667*	0.157	-0.400*	
Lap-2	N	24	49	58	
	A	0.542	0.449	0.612	
	B	0.458	0.551	0.388	
	HW	0.0000♣	0.220	0.0000♣	
	F _{IS}	-0.840*	0.150	0.678*	

Tabla XI Continuación

Locus	Alelo	Poblaciones			
		CaliLA	CaliSC	CaliLP	Sub
Mdh	N	23	31	35	4
	A		0.016		
	B	0.435	0.226		
	C	0.565	0.484	0.414	0.500
	D		0.274	0.586	0.500
	HW	0.768	0.005	0.162	0.046
	F _{IS}	-0.039	-0.043	-0.223	-1.000*
Me	N	16	40	48	17
	A		0.250		0.412
	B		0.400	0.833	0.294
	C	0.563	0.325	0.083	0.235
	D	0.438	0.025	0.083	0.059
	HW	0.0001♣	0.0000♣	0.0000♣	0.0000♣
	F _{IS}	1.000*	1.000*	1.000*	1.000*
Mpi	N	11	21	25	
	A	0.409	0.500	0.660	
	B	0.591	0.500	0.340	
	HW	0.294	0.127	0.006	
	F _{IS}	-0.273	0.321	0.568*	
Pgi	N	20	47	53	10
	A	0.550	0.383	0.283	0.200
	B	0.450	0.617	0.717	0.800
	HW	0.064	0.074	0.235	0.429
	F _{IS}	-0.393	-0.219	0.172	-0.200*
Pgm-1	N		2		
	A		0.250		
	B		0.750		
	HW		0.637		
	F _{IS}		0.000		

Tabla XI Continuación

Locus	Alelo	Poblaciones			Sub
		CaliLA	CaliSC	CaliLP	
Pgm-2	N	16	5		
	A	0.344	0.200		
	B	0.656	0.800		
	HW	0.324	0.025		
	F _{IS}	-0.216	1.000*		
Pgm-3	N	14	9		
	A	0.893	0.889		
	B	0.107	0.111		
	HW	0.653	0.708		
	F _{IS}	-0.083*	-0.067*		
Sod-1	N	24	35	59	17
	A	0.521	0.414	0.517	0.088
	B	0.479	0.586	0.483	0.912
	HW	0.0002♣	0.005	0.0012♣	0.690
	F _{IS}	0.759*	0.515*	0.430*	-0.067*
Sod-2	N	6	24	52	13
	A	1.000	0.792	0.962	0.731
	B		0.208	0.038	0.269
	HW		0.0003♣	0.0000♣	0.935
	F _{IS}		0.757*	1.000*	-0.060
6Pgdh	N	22	5	5	
	A				
	B				
	C	0.455	0.400	0.400	
	D	0.545	0.600	0.600	
	HW	0.211	0.136	0.709	
	F _{IS}	0.288	-0.600*	0.273	

Tabla XI Continuación

	Poblaciones			
	CaliLA	CaliSC	CaliLP	Sub
Ind/locus	17.7	25.9	36.0	16.0
ee	1.5	3.6	4.7	2.7
Ho	0.441	0.443	0.442	0.435
ee	0.031	0.025	0.026	0.047
He	0.456	0.463	0.457	0.457
ee	0.032	0.025	0.027	0.050
F_{IS}	-0.012	0.135*	0.132	0.035
F_{IS} Jackknife	-0.012	0.136	0.131	0.049
Desv. est.	0.139	0.111	0.116	0.251

Poblaciones: CaliLA = *C. californiensis* de Laguna Agiabampo, CaliSC = *C. californiensis* de Puerto San Carlos, CaliLP = *C. californiensis* de La Paz, Sub = *C. subimbricata* de Melaque.

N= organismos con tinción positiva para el locus. * = F_{IS} significativo.

♣ = Desviación del modelo de Hardy-Weinberg con todos los genotipos (TFPGA 1.3).

Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada,

ee= error estándar. Desv. Est. = desviación estándar.

Para la población CaliLA revelaron 18 loci siendo 17 polimórficos, de los cuales 5 se desviaron del modelo de Hardy-Weinberg (HW) (27.77 %) mientras que en la población CaliSC se obtuvieron 21 loci polimórficos de los cuales 3 se desviaron del modelo de HW (14.28 %). En la población CaliLP revelaron 18 loci polimórficos de los cuales 7 se desviaron del modelo de HW (38.88 %). En *C. subimbricata* (población Sub) de 9 loci polimórficos que se obtuvieron, solamente 1 se desvió del modelo HW (11.11 %) (Tabla XI).

La tendencia observada para *C. californiensis* indicó que en las tres poblaciones *Est-3* se desvió del modelo de HW por exceso de heterocigotos (F_{IS-}) mientras que para *Me* por deficiencia de heterocigotos (F_{IS+}). Para *Lap-2* se observó un caso de desviación significativa por exceso de heterocigotos F_{IS-} (población CaliLA) y uno por deficiencia de heterocigotos F_{IS+} (población CaliLP). Para *Sod-1* dos poblaciones se desviaron del modelo de HW por deficiencia de heterocigotos F_{IS+} (poblaciones CaliLA y CaliLP) y para *Sod-2* se observó el mismo resultado pero en las poblaciones CaliSC y CaliLP. En *C. subimbricata* solamente se obtuvo un caso de desviación al modelo de HW en *Me* por deficiencia de heterocigotos F_{IS+} .

De manera general se puede plantear que las cuatro poblaciones se encuentran en desequilibrio de Hardy-Weinberg, afirmación que se sustenta también con los resultados obtenidos de las medidas de variabilidad genética (Tabla XI).

En la Tabla XI también se puede observar que el número promedio de organismos que revelaron por locus para cada población, tuvo un rango de entre 36 y 16 organismos, el cual fue un número adecuado para este tipo de análisis genéticos.

Los valores de heterocigosidad observada (H_o) por población tuvieron valores muy cercanos entre las cuatro poblaciones, siendo el menor de 0.435 para la población Sub y el mayor de 0.443 para la población CaliSC. En todas

las poblaciones los valores de heterocigosidad esperada (H_e) fueron mayores a los de heterocigosidad observada (Tabla XI).

El coeficiente de endogamia (F_{IS}) por población reveló que solamente en la población CaliLA se obtuvo un exceso de heterocigotos; en las otras tres poblaciones se obtuvo una deficiencia de heterocigotos, siendo significativamente diferente de cero solo en la población CaliSC (Tabla XI).

La prueba de diferenciación alélica entre las poblaciones de *C. californiensis* reveló que en las tres poblaciones los loci *Mdh* y *Me* tienen diferente distribución de alelos. Entre las poblaciones CaliLA y CaliSC la diferenciación alélica ocurrió en *Idh-2*, entre las poblaciones CaliSC y CaliLP la diferenciación se observó en *Hk* y *Sod-2*, mientras que entre las poblaciones CaliLA y CaliLP la composición alélica difirió únicamente en *Pgi-1* (Tabla XII).

Tabla XII Comparaciones alélicas significativas para *C. californiensis* (prueba G de probabilidad, Genepop 3.3).

Población	<i>Hk</i>	<i>Idh-2</i>	<i>Mdh</i>	<i>Me</i>	<i>Pgi-1</i>	<i>Sod-2</i>
CaliLA vs CaliSC		*	*	*		
CaliLA vs CaliLP			*	*	*	
CaliSC vs CaliLP	*		*	*		*

CaliLA vs CaliSC y CaliSC vs CaliLP $\alpha' = 0.0027$, CaliLA vs CaliLP $\alpha' = 0.003$

Comparación de genotipos en *C. californiensis*.

Debido a la diferente composición alélica en los loci *Mdh* y *Me*, en la prueba de comparación de genotipos se obtuvieron diferencias significativas entre todas las poblaciones de *C. californiensis* (Tabla XIII). Las principales diferencias radican en que en el locus *Mdh* la población CaliSC presentó el mayor número de genotipos observados (AB, BB, BC, CC, CD y DD) siendo el genotipo AB exclusivo de esta población. Las poblaciones CaliLA y CaliLP presentaron tres genotipos observados BB, BC, CC en la primera y CC, CD y DD en esta última (Tabla XIII).

El locus *Me* presentó el mayor número de genotipos observados en la población CaliSC (AA, BB, CC y DD), tres en la población CaliLP (BB, CC y DD) y solamente dos en la población CaliLA (CC y DD) (Tabla XIII).

Tabla XIII Comparación de los genotipos para tres poblaciones de *C. californiensis* (Genepop 3.3).

Locus	Genotipo	CaliLA		CaliSC		CaliLP	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
Alp-1	A-A			1	0.909	2	1.909
	A-B			3	3.182	3	3.182
	B-B			2	1.909	1	0.909
Alp-2	A-A	0	0.143	3	2.758	0	0.714
	A-B	2	1.714	8	8.485	6	4.571
	B-B	2	2.143	6	5.758	5	5.714
Alp-3	A-A	5	5.872	6	8.880	4	6.882
	A-B	14	12.255	25	19.240	19	13.235
	B-B	5	5.872	7	9.880	3	5.882
Est-2	A-A	7	6.419	19	18.573	17	12.879
	A-B	10	11.163	20	20.854	17	25.242
	B-B	5	4.419	6	5.573	16	11.879
Est-3	A-A	0	4.884	1	11.144	0	10.652
	A-B	21	11.233	45	24.711	50	28.696
	B-B	1	5.884	3	13.144	8	18.652
Es-D	A-A	5	4.800	6	3.676	13	10.410
	A-B	6	6.400	5	9.649	3	8.179
	B-B	2	1.800	8	5.676	4	1.410
Hk	A-A	0	0.030	0	0.024	8	2.877
	A-B	2	1.273	2	1.756	5	11.795
	A-C	0	0.667	0	0.195	0	3.452
	B-B	8	6.364	15	15.366	14	11.233
	B-C	3	7.000	4	3.512	8	6.740
	C-C	4	1.667	0	0.146	2	0.904

Tabla XIII Continuación

Locus	Genotipo	CaliLA		CaliSC		CaliLP	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
<i>Idh-1</i>	A-A			1	0.462	0	0.429
	A-B			2	3.077	3	2.143
	B-B			4	3.462	1	1.429
<i>Idh-2</i>	A-A	8	5.182	1	0.735	13	6.774
	A-B	3	8.636	7	7.531	10	22.452
	B-B	6	3.182	17	16.735	24	17.774
<i>Lap-1</i>	A-A	1	4.915	7	5.784	8	13.374
	A-B	20	12.170	20	22.433	38	27.252
	B-B	3	6.915	22	20.784	8	13.374
<i>Lap-2</i>	A-A	2	6.915	12	9.753	31	21.609
	A-B	22	12.170	20	24.495	9	27.783
	B-B	0	4.915	17	14.753	18	8.609
<i>Mdh</i>	A-A						
	A-B			1	0.230		
	A-C			0	0.492		
	A-D			0	0.279		
	B-B	4	4.222	4	1.492		
	B-C	12	11.556	5	6.885		
	B-D			0	3.902		
	C-C	7	7.222	5	7.131	4	5.884
	C-D			15	8.361	21	17.232
	D-D			1	2.230	10	11.884

Tabla XIII Continuación

Locus	Genotipo	CaliLA		CaliSC		CaliLP	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
Me	A-A			10	2.405		
	A-B			0	8.101		
	A-C			0	6.582		
	A-D			0	0.506		
	B-B			16	6.278	40	33.263
	B-C			0	10.532	0	6.737
	B-D			0	0.810	0	6.737
	C-C	9	4.935	13	4.114	4	0.295
	C-D	0	8.129	0	0.658	0	0.674
	D-D	7	2.935	1	0.013	4	0.295
Mpi	A-A	1	1.714	7	5.122	14	10.776
	A-B	7	5.571	7	10.756	5	11.449
	B-B	3	3.714	7	5.122	6	2.776
Pgi-1	A-A	4	5.923	4	6.774	6	4.143
	A-B	14	10.154	28	22.452	18	21.714
	B-B	2	3.923	15	17.774	29	27.143
Pgm-2	A-A	1	1.774	1	0.111		
	A-B	9	7.452	0	1.778		
	B-B	6	6.774	4	3.111		
Pgm-3	A-A	11	11.111	7	7.059		
	A-B	3	2.778	2	1.882		
	B-B	0	0.111	0	0.059		
Sod-1	A-A	11	6.383	10	5.884	22	15.641
	A-B	3	12.234	9	17.232	17	29.718
	B-B	10	5.383	16	11.884	20	13.641

Tabla XIII Continuación

Locus	Genotipo	CaliLA		CaliSC		CaliLP	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
Sod-2	A-A	6		18	14.957	50	48.058
	A-B			2	8.085	0	3.883
	B-B			4	0.957	2	0.058
6Pgdh	C-C	6	4.419	0	0.667	1	0.667
	C-D	8	11.163	4	2.667	2	2.667
	D-D	8	6.419	1	1.667	2	1.667

CaliLA vs CaliSC y CaliSC vs CaliLP $\alpha' = 0.0027$, CaliLA vs CaliLP $\alpha' = 0.003$
 Frec obs = frecuencia observada, Frec esp = frecuencia esperada.

Distancias de Nei entre *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

La distancia de Nei entre las tres poblaciones de *C. californiensis* tuvo un rango de entre 0.102 a 0.040. Las poblaciones CaliSC y CaliLP forman un grupo en el dendrograma (Figura 10) debido a que tuvieron la menor distancia genética (0.040). Entre estas dos poblaciones la distancia geográfica es de 539 Km por línea de costa, mientras que entre las poblaciones CaliLA y CaliLP la distancia es de 286 Km y entre las poblaciones CaliLA y CaliSC es de 825 Km, lo cual no reflejó una relación directa entre distancia genética y distancia geográfica. En relación a las tres poblaciones de *C. californiensis* con la de *C. subimbricata*, la distancia de Nei osciló entre 0.65 y 0.49 (Tabla XIV).

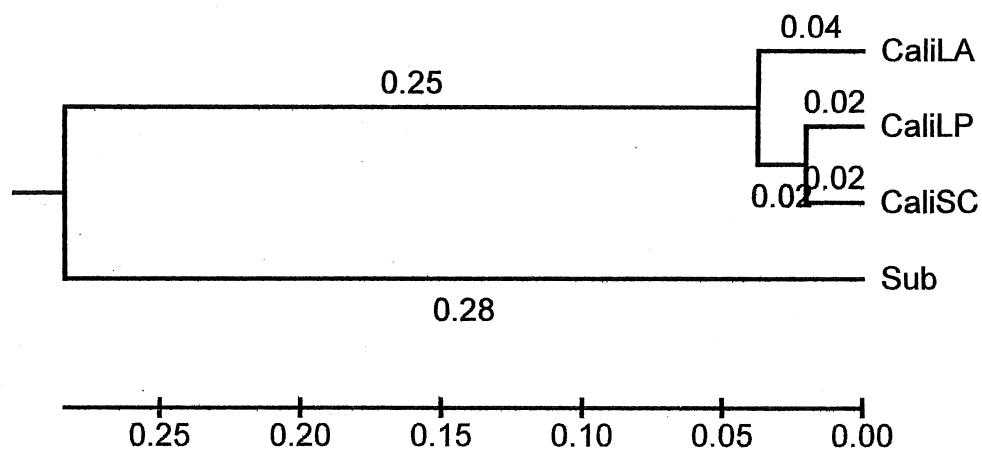


Figura 10 Representación de la distancia genética de Nei (1978) por medio del análisis de agrupamiento UPGMA entre las poblaciones de *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

Poblaciones: CaliLA = *C. californiensis* de Laguna Agiabampo, CaliSC = *C. californiensis* de Puerto San Carlos, CaliLP = *C. californiensis* de La Paz.

Tabla XIV Distancia genética de Nei (1978) (arriba de la diagonal) y distancia geográfica (Km) (debajo de la diagonal) para *C. californiensis* y *C. subimbricata* (BIOSYS-1).

Población	CaliLA	CaliSC	CaliLP	Sub
CaliLA	-	0.047	0.102	0.488
CaliSC	825	-	0.040	0.650
CaliLP	286	539	-	0.565

Estadísticos F en *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

Los resultados de los coeficientes de endogamia F_{IS} y F_{IT} así como el índice de fijación (F_{ST}) en *C. californiensis* se presentan en la Tabla XV. El coeficiente de endogamia F_{IS} mostró 9 loci con valores significativamente diferentes de cero, de los cuales 6 loci y el F_{IS} total mostraron deficiencia de heterocigotos significativa. Por su parte el coeficiente F_{IT} indicó que 9 loci fueron significativamente diferentes de cero, 6 de estos casos y el F_{IT} total tuvieron una deficiencia de heterocigotos significativa. En relación al índice de fijación F_{ST} , se obtuvieron 4 loci (*Hk*, *Idh*, *Mdh* y *Me*) significativamente diferentes de cero así como el F_{ST} total, el cual indicó poca estructuración genética entre poblaciones de acuerdo al criterio de Wright (1978). Los valores medios de los estadísticos F calculados por el Método de Weir y Cockerham (1984) mostraron valores cercanos a los estimados por medio del método de Jackknife, éstos valores así como su error estándar y los intervalos de confianza obtenidos mediante Bootstrap se muestran en la Tabla XV.

Tabla XV Estadísticos F para tres poblaciones de *C. californiensis* (FSTAT 2.8).

Loci	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}
Alp-1	0.063	0.027	-0.038
Alp-2	-0.086	-0.097	-0.010
Alp-3	-0.304 ♣	-0.318 ♣	-0.011
Est-2	0.181	0.188	0.008
Est-3	-0.811 ♣	-0.809 ♣	0.001
Es-D	0.430 ♣	0.458 ♣	0.050
Hk	0.346 ♣	0.401 ♣	0.084 ♣
Idh-2	0.487 ♣	0.533 ♣	0.091 ♣
Lap-1	-0.265 ♣	-0.237 ♣	0.022
Lap-2	0.210	0.226	0.020
Mdh	-0.105	0.102	0.187 ♣
Me	1.000 ♣	1.000 ♣	0.332 ♣
Mpi	0.322	0.340	0.027
Pgi-1	-0.106	-0.053	0.048
Pgi-2	0.044	-0.046	-0.094
Pgm-2	0.030	0.009	-0.021
Pgm-3	-0.077	-0.124	-0.044
Sod-1	0.513 ♣	0.510 ♣	-0.006
Sod-2	0.836 ♣	0.854 ♣	0.111
6Pgdh	0.157	0.093	-0.076
TOTAL	0.121 ♣	0.161 ♣	0.045 ♣
Promedio	0.120	0.162	0.046
Jackknife			
Error	0.090	0.101	0.028
Estándar			
Bootstrap	0.300	0.364	0.101
IC 95%	0.046	0.034	0.001

Para establecer con mayor claridad cuales poblaciones de *C. californiensis* presentaron mayor diferenciación genética, se calculó el índice de

fijación F_{ST} entre pares de poblaciones. Entre las poblaciones CaliLA y CaliSC se obtuvo un $F_{ST} = 0.045$, siendo ligeramente menor entre las poblaciones CaliSC y CaliLP ($F_{ST} = 0.041$); en ambos casos existió poca diferenciación genética de acuerdo al criterio de Wright (1978), sin embargo fueron significativamente diferentes de cero. Entre las poblaciones CaliLA y CaliLP el valor de F_{ST} (0.101) indicó una moderada diferenciación genética de acuerdo a este mismo autor y de igual manera este valor fue significativamente diferente de cero.

Frecuencias alélicas para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

Las frecuencias alélicas de los loci analizados para las poblaciones de *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp* se presentan en la Tabla XVI.

Para todas estas poblaciones se ensayaron 23 sistemas enzimáticos de los cuales se obtuvieron resultados favorables en 9 loci en las poblaciones CoBA y CSF, 10 loci en las poblaciones Flu y CSQ, y 11 loci en la población CoSF.

Entre las poblaciones CoBA, CoSF, CSF y CSQ se obtuvieron 8 loci comunes (*Alp-3*, *Hk*, *Idh-1*, *Idh-2*, *Mdh*, *Me*, *Mpi* y *Pgi-1*), no obstante que el alelo más común fue diferente entre poblaciones. En la población de *C. fluctifraga* (Flu) los loci *Hk* e *Idh-1* no mostraron ningún bandeo posterior a la tinción, y a diferencia de las poblaciones de *C. cortezi* y *Chione sp.*, el locus *Idh-2* en *C. fluctifraga* fue monomórfico. El locus *Pgi-2* mostró un bandeo

únicamente en esta especie, de la misma forma que los alelos Mdh^A , Mdh^B , Mdh^C y Mdh^D , se presentaron únicamente en esta población.

Tabla XVI Frecuencias alélicas, probabilidad para el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (HW) y coeficiente de endogamia (F_{IS}) para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

Locus	Alelo	Poblaciones				
		CoBA	CoSF	Flu	CSF	CSQ
Organismos analizados		30	30	36	30	30
<i>Alp-3</i>	N	24	29	19	26	28
	A	0.208	0.310	0.421	0.423	0.357
	B	0.792	0.690	0.579	0.577	0.643
	HW	0.959	0.015	0.198	0.033	0.0033♣
	F _{IS}	0.011	-0.436*	-0.271	-0.402	-0.543*
<i>Hk</i>	N	14	20		24	17
	A	0.393	0.050		0.354	0.088
	B	0.607	0.800		0.646	0.676
	C		0.150			0.235
	HW	0.193	0.741		0.0004♣	0.694
	F _{IS}	-0.315	-0.169*		0.737*	-0.075
<i>Idh-1</i>	N	8	20		18	8
	A	0.250	0.525		0.500	0.625
	B	0.750	0.475		0.500	0.375
	HW	0.346	0.175		0.157	0.090
	F _{IS}	0.391	-0.280		-0.308	-0.556*
<i>Idh-2</i>	N	12	25	3	14	9
	A	0.875	0.460		0.679	0.556
	B	0.125	0.540	1.000	0.321	0.444
	HW	0.621	0.815		0.584	0.294
	F _{IS}	-0.100*	-0.026		-0.110	-0.297

Tabla XVI Continuación

Locus	Alelo	Poblaciones				
		CoBA	CoSF	Flu	CSF	CSQ
Mdh	N	30	30	36	30	27
	A			0.181		
	B			0.444		
	C			0.319		
	D			0.056		
	E	0.633	0.500		0.417	0.574
	F	0.367	0.500		0.583	0.426
	HW	0.0015♣	0.0001♣	0.000♣	0.0001♣	0.0022♣
	F _{IS}	-0.568*	-0.725*	-0.240	-0.706*	-0.578*
Me	N	26	30	31	20	26
	C	0.154	0.667	0.097	0.050	0.115
	D	0.846	0.333	0.903	0.950	0.885
	HW	0.000♣	0.000♣	0.000♣	0.000♣	0.000♣
	F _{IS}	1.000*	1.000*	1.000*	1.000*	1.000*
Mpi	N	8	27	29	15	18
	A		0.093		0.233	0.194
	B	0.188	0.574	0.276	0.633	0.694
	C	0.813	0.333	0.724	0.133	0.111
	D					
	HW	0.514	0.246	0.262	0.370	0.145
	F _{IS}	-0.167*	-0.125	-0.302*	-0.321*	-0.041
Pgi-1	N	27	30	25	30	30
	A	0.370	0.450	0.380	0.467	0.250
	B	0.630	0.550	0.620	0.533	0.750
	HW	0.160	0.126	0.027	0.010	0.394
	F _{IS}	-0.253	-0.264	0.103	-0.460*	-0.139
Pgi-2	N			14		
	A			0.643		
	B			0.357		
	HW			0.696		
	F _{IS}			0.103		

Tabla XVI Continuación

Locus	Alelo	Poblaciones				
		CoBA	CoSF	Flu	CSF	CSQ
Pgm-1	N		19	3	15	8
	A		0.263	0.500	0.533	0.500
	B		0.737	0.500	0.467	0.500
	HW		0.709	0.083	0.782	0.157
	F _{IS}		-0.059	-1.000*	-0.037	0.548
Pgm-2	N	6	27	7		5
	A	1.000	0.519	0.857		0.600
	B		0.481	0.143		0.400
	HW		0.012	0.008		0.136
	F _{IS}		-0.469	1.000*		-0.600*
6Pgdh	N		23	18		
	C		0.283	0.361		
	D		0.717	0.639		
	HW		0.867	0.723		
	F _{IS}		0.057	-0.055		
Ind/locus		17.2	25.5	18.5	21.2	17.6
ee		3.2	1.3	3.7	2.2	3.1
Ho		0.353	0.534	0.456	0.525	0.542
(ee)		0.088	0.069	0.113	0.094	0.082
He		0.333	0.468	0.405	0.450	0.462
(ee)		0.052	0.019	0.061	0.045	0.031
F_{IS}		-0.060	-0.145	-0.158	-0.174	-0.186
F_{IS} Jackknife		-0.069	-0.146	-0.168	-0.177	-0.188
Desv. est		0.161	0.133	0.164	0.151	0.143

Poblaciones: CoBA= *C. cortezi* de Bahía Adair, CoSF= *C. cortezi* de San Felipe, Flu= *C. fluctifraga* de Bahía Adair, CSF= *Chione sp.* de San Felipe, CSQ= *Chione sp.* de San Quintín.

N= organismos con tinción positiva para el locus. *F_{IS} significativo.

♣Desviación del modelo de Hardy-Weinberg con todos los genotipos (TFPGA 1.3).

Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada, ee= error estándar.

Los loci *Mdh* y *Me* se desviaron del modelo de Hardy-Weinberg (HW) en las cinco poblaciones, además de *Alp-3* en la población CSQ y *Hk* en la población CSF. Esta desviación al modelo de HW fue producto del exceso de heterocigotos significativo (F_{IS} negativo) (*Alp-3* para la población CSQ y las cinco de *Mdh*) o bien de deficiencia de heterocigotos significativa (F_{IS} positivo) (todas las poblaciones en *Me* y *Hk* únicamente en CSF). Además de estos casos de exceso de heterocigotos, se obtuvieron 10 casos en los que fueron significativos aunque no se desviaron del equilibrio de HW (*Idh-2* y *Mpi* en CoBA, *Alp-3* y *Hk* en CoSF, *Mpi* y *Pgm-1* en Flu, *Mpi* y *Pgi-1* en CSF, *Idh-1* y *Pgm-2* en CSQ) y solo un caso de deficiencia de heterocigotos significativa sin desviación del equilibrio de HW (*Pgm-2* en Flu).

Los resultados de heterocigosidad en orden decreciente fueron CSQ, CoSF, CSF, Flu y CoBA; para todas las poblaciones se obtuvo la heterocigosidad observada mayor a la esperada (Tabla XVI).

El coeficiente de endogamia F_{IS} por población mostró en todas las poblaciones un exceso de heterocigotos aunque en ningún caso fue significativo (Tabla XVI). Se obtuvieron valores similares de este coeficiente por el Método de Jackknife, aunque éstos últimos tuvieron valores ligeramente superiores. Estos resultados del F_{IS} de manera conjunta con los obtenidos del ajuste al modelo de HW indicaron que, al igual que las de *C. californiensis* y *C. subimbricata*, también se encuentran en desequilibrio.

Los loci que indicaron diferencias alélicas significativas entre poblaciones fueron *Hk*, *Idh-2*, *Mdh*, *Me*, *Pgi-1* y *Pgm-2* (Tabla XVII). Estas diferencias radicaron principalmente en el cambio de frecuencia de un alelo entre las poblaciones, por ejemplo el alelo *Idh-2*^A cuya frecuencia fue de 0.875 en CoBA y de 0.460 en CoSF. Otro factor que causó diferencias alélicas significativas fue la presencia de ciertos alelos en algunas poblaciones y su ausencia en otras como el alelo *Hk*^C que estuvo presente en CoSF y CSQ mientras que no se presentó en CoBA, CSF y Flu. También se obtuvieron casos en donde el alelo más común cambió ligeramente de frecuencia entre poblaciones, ocasionando diferencias alélicas significativas, tal fue el caso de *Pgi-1*^B (Tabla XVII).

Tabla XVII Comparaciones alélicas significativas entre *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. (prueba G de probabilidad, Genepop 3.3).

Poblaciones	<i>Hk</i>	<i>Idh-2</i>	<i>Mdh</i>	<i>Me</i>	<i>Pgi-1</i>	<i>Pgm-2</i>
CoBA vs CoSF	*	*			*	*
CoBA vs CSF				*	*	
CoBA vs CSQ	*				*	
CoSF vs CSF	*			*		
CoSF vs CSQ	*			*		
CSF vs CSQ	*					
Flu vs CoBA		*	*			
Flu vs CoSF			*	*	*	
Flu vs CSF		*	*		*	
Flu vs CSQ			*		*	

$\alpha' = 0.0073$ para CoBA vs Flu, CoBA vs CSF, CSF vs Flu.

$\alpha' = 0.0064$ para CoBA vs CoSF, CoBA vs CSQ, CoSF vs Flu, CoSF vs CSF, CSQ vs Flu, CSF vs CSQ. $\alpha' = 0.0057$ para CoSF vs CSF. * significativos

Comparación de genotipos en *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp.

Los genotipos obtenidos para estas poblaciones se presentan en la Tabla XVIII. La diferente composición genotípica radicó principalmente en que, en algunas poblaciones al no presentar algún alelo no mostraron a los heterocigotos, tal fue el caso del alelo Hk^C ausente en la población CoBA y por lo tanto sin heterocigotos con este alelo (AC o BC), a diferencia de las poblaciones CoSF y CSQ que si presentaron heterocigotos BC. Esta situación aunada a la presencia del genotipo BB en las poblaciones CoBA, CSF y CSQ, ocasionó que se obtuvieran diferencias genotípicas en este locus (Tabla XIX).

Cabe destacar que la población Flu, perteneciente a la especie *C. fluctifraga* tuvo dos loci cuyos genotipos fueron exclusivos de esta población. En *Mdh* se obtuvieron genotipos AA, AB, BB, CC, DD y predominantemente individuos heterocigotos BC (solo un individuo en los homocigotos BB y CC), de esta manera, este genotipo heterocigoto BC incrementó de manera importante la heterocigosidad. Adicionalmente en el locus *Pgi-2* se observaron los genotipos AA, AB y BB solamente en esta población (Tabla XVIII).

Los resultados significativos de la prueba de diferenciación de genotipos entre estas poblaciones se muestran en la Tabla XIX. Esta prueba reveló que existen diferencias significativas en los mismos casos que la prueba de comparación alélica; sin embargo, aunque no se encontraron diferencias alélicas, si se encontraron diferencias significativas en los siguientes casos: en

el locus *Mdh* entre CoBA y CSF, ya que ambas poblaciones tuvieron predominantemente el genotipo EF, sin embargo en CoBA se presentó el genotipo EE y en la población CSF el genotipo FF. En *Me* se encontraron diferencias significativas, en el locus *Me* las poblaciones CoBA y CSF, las cuales mostraron predominantemente el genotipo DD, sin embargo la diferencia pudo radicar en el número de organismos homocigotos CC ya que en la primera se obtuvieron 4 mientras que en la segunda población solamente 1 individuo. En este mismo loci se encontraron diferencias genotípicas entre las poblaciones CoSF y CSQ debidas a que el genotipo predominante en la primera fue CC, mientras que en la segunda población fue el genotipo DD (Tabla XVIII).

Tabla XVIII Comparación de genotipos para poblaciones de *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. (Genepop 3.3).

Locus	Genotipo	CoBA		CoSF		Flu		CSF		CSQ	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
<i>Alp-3</i>	A-A	1	0.957	0	2.684	2	3.243	2	4.529	0	3.455
	A-B	8	8.085	18	12.632	12	9.514	18	12.941	20	13.091
	B-B	15	14.957	11	13.684	5	6.243	6	8.529	8	11.455
<i>Hk</i>	A-A	1	2.037	0	0.026			7	2.894	0	0.091
	A-B	9	6.926	2	1.641			3	11.213	3	2.091
	A-C			0	0.308					0	0.727
	B-B	4	5.037	12	12.718			14	9.894	7	7.667
	B-C			6	4.923					6	5.576
	C-C			0	0.385					1	0.848
<i>Idh-1</i>	A-A	1	0.400	4	5.385			3	4.371	2	3.000
	A-B	2	3.200	13	10.231			12	9.257	6	4.000
	B-B	5	4.400	3	4.385			3	4.371	0	1.000
<i>Idh-2</i>	A-A	9	9.130	5	5.163			6	6.333	2	2.647
	A-B	3	2.739	13	12.673			7	6.333	6	4.706
	B-B	0	0.130	7	7.163			1	1.333	1	1.647

Tabla XVIII Continuación

Locus	Genotipo	CoBA		CoSF		Flu		CSF		CSQ	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
Mdh	A-A					2	1.099				
	A-B					9	5.859				
	A-C					0	4.211				
	A-D					0	0.732				
	B-B					1	6.986				
	B-C					21	10.366				
	B-D					0	1.803				
	C-C					1	3.563				
	C-D					0	1.296				
	D-D					2	0.085				
	E-E	8	11.915	2	7.373			0	5.085	5	8.774
	E-F	22	14.169	26	15.254			25	14.831	21	13.453
	F-F	0	3.915	2	7.373			5	10.085	1	4.774
Me	C-C	4	0.549	20	13.220	3	0.246	1	0.026	3	0.294
	C-D	0	6.902	0	13.559	0	5.508	0	1.949	0	5.412
	D-D	22	18.549	10	3.220	28	25.246	19	18.026	23	20.294

Tabla XVIII Continuación

Locus	Genotipo	CoBA		CoSF		Flu		CSF		CSQ	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
Mpi-1	A-A			0	0.189			0	0.370	0	0.600
	A-B			5	2.925			5	3.519	7	5.000
	A-C			0	1.698			0	0.741	0	0.800
	B-B	0	0.200	7	8.774	1	2.105	5	6.333	8	8.571
	B-C	3	2.600	12	10.528	14	11.789	4	2.815	2	2.857
	C-C	5	5.200	3	2.887	14	15.105	0	0.222	1	0.171
Pgi-1	A-A	2	3.585	4	5.949	1	3.490	3	6.407	1	1.780
	A-B	16	12.830	19	15.102	17	12.020	22	15.186	13	11.441
	B-B	9	10.585	7	8.949	7	9.490	5	8.407	16	16.780
Pgi-2	A-A					6	5.667				
	A-B					6	6.667				
	B-B					2	1.667				
Pgm-1	A-A			1	1.216			4	4.138	3	1.867
	A-B			8	7.568			8	7.724	2	4.267
	B-B			10	10.216	0	0.600	3	3.138	3	1.867

Tabla XVIII Continuación

Locus	Genotipo	CoBA		CoSF		Flu		CSF		CSQ	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
<i>Pgm-2</i>	A-A			4	7.132	6	5.077			1	1.667
	A-B			20	13.736	0	1.846				
	B-B			3	6.132	1	0.077			0	0.667
<i>6Pgdh</i>	C-C			2	1.733	2	2.229				
	C-D			9	9.533	9	8.543				
	D-D			12	11.733	7	7.229				

Tabla XIX Comparaciones de genotipos significativas para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. (prueba G de probabilidad, Genepop 3.3).

Poblaciones	<i>Hk</i>	<i>Idh-2</i>	<i>Mdh</i>	<i>Me</i>	<i>Pgi-1</i>	<i>Pgm-2</i>
CoBA vs CoSF	*	*		*	*	*
CoBA vs CSF			*		*	
CoBA vs CSQ	*				*	
CoSF vs CSF	*			*		
CoSF vs CSQ				*		
CSF vs CSQ	*					
Flu vs CoBA		*	*			
Flu vs CoSF			*	*	*	
Flu vs CSF		*	*		*	
Flu vs CSQ			*		*	

$\alpha' = 0.0073$ para CoBA vs Flu, CoBA vs CSF, CSF vs Flu

$\alpha' = 0.0064$ para CoBA vs CoSF, CoBA vs CSQ, CoSF vs Flu, CoSF vs CSF, CSQ vs Flu, CSF vs CSQ

$\alpha' = 0.0057$ para CoSF vs CSF

Distancias de Nei en *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp.

Las distancias genéticas de Nei (Tabla XX) indicaron mayor similitud entre las poblaciones de *Chione* sp. y las de *C. cortezi* y una distancia genética mayor de ambas en relación a *C. fluctifraga*. Las dos poblaciones de *Chione* sp. fueron similares, incluso es posible inferir que se trata de una misma población. Cabe señalar que la población CSQ fue adquirida del cultivo de San Quintín, B. C. pero procedió del Alto Golfo de California. Este hecho fue corroborado con los resultados de los análisis alozímicos y en particular los de distancia genética de Nei.

Tabla XX Distancia genética de Nei (1978) para *Chione cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. (BIOSYS-1).

Población	CoBA	CoSF	Flu	CSF
CoSF	0.192			
Flu	0.300	0.254		
CSF	0.106	0.114	0.300	
CSQ	0.149	0.065	0.229	0.010

Las poblaciones CSF y CSQ fueron más similares a CoSF que a CoBA, sin embargo, las cuatro poblaciones tuvieron una mayor distancia genética respecto a la población Flu; estas distancias se ilustran en el dendrograma construido por el método UPGMA (Figura 11).

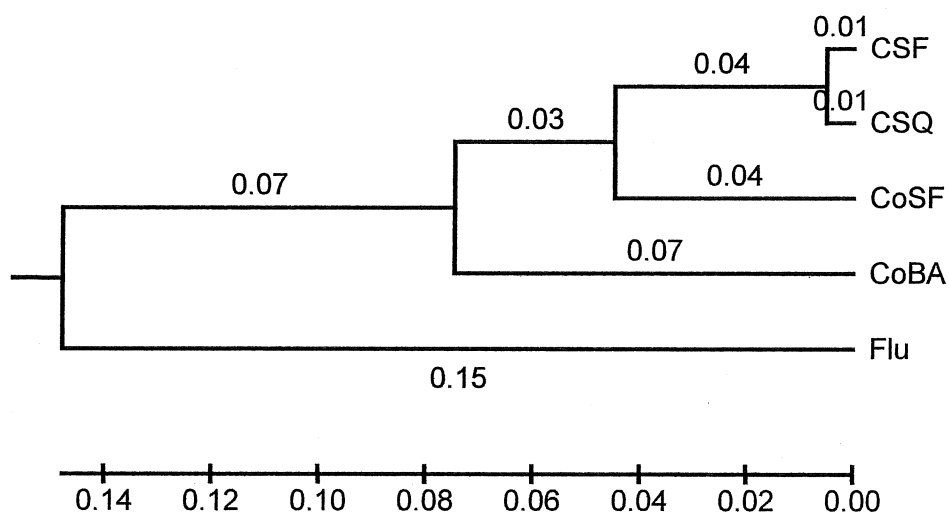


Figura 11 Representación de la distancia genética de Nei (1978) por medio del análisis de agrupamiento UPGMA entre las poblaciones de *C. cortezi*, *Chione sp.* y *C. fluctifraga*.

Poblaciones: CoBA= *C. cortezi* de Bahía Adair, CoSF= *C. cortezi* de San Felipe, Flu= *C. fluctifraga* de Bahía Adair, CSF= *Chione sp.* de San Felipe, CSQ= *Chione sp.* de San Quintín.

Estadísticos F en *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

Se realizaron diferentes cálculos del índice de fijación F_{ST} con la finalidad de determinar con mayor claridad si las poblaciones de *Chione sp.* pertenecían a la especie *C. cortezi* o a *C. fluctifraga*.

El primero de ellos se obtuvo incluyendo las cinco poblaciones cuyo F_{ST} fue de 0.136 lo cual indicó una moderada diferenciación genética (Wright,

1978) (conociendo de antemano que Flu es una especie distinta). Entre las poblaciones CSF y CSQ, las cuales tuvieron la menor distancia genética, se calculó un coeficiente F_{ST} con valor de 0.013, lo cual indicó poca estructuración genética, es decir una posibilidad grande de que estas dos poblaciones pertenezcan a una misma población (Wright, 1978). Este resultado contrastó con el F_{ST} obtenido entre las dos poblaciones de *C. cortezi* (CoBA y CoSF) que fue de 0.198 y que representó una diferenciación genética grande (Wright, 1978).

En otro cálculo se incluyeron las poblaciones CoBA, CoSF y Flu, obteniendo un F_{ST} de 0.194, es decir una diferenciación genética grande (Wright, 1978). Entre CSF, CSQ y Flu se obtuvo un F_{ST} de 0.144, valor que indicó una diferenciación genética moderada, aunque este valor estuvo cercano a la categoría de diferenciación genética grande (Wright, 1978).

Después de obtener todos estos cálculos del coeficiente F_{ST} , finalmente se realizó un análisis que incluyó solamente a las poblaciones CoBA, CoSF, CSF y CSQ y se obtuvo una diferenciación genética moderada ($F_{ST} = 0.112$) (Tabla XXI). Este resultado del coeficiente F_{ST} confirmó los resultados obtenidos de la distancia genética anteriormente expuestos, en los cuales las poblaciones de *Chione sp.* (CSF y CSQ) fueron genéticamente más similares a las de *C. cortezi*.

Tabla XXI Estadísticos F para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.* (FSTAT 2.8).

Poblaciones	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
CoBA, CoSF, Flu, CSF y CSQ	-0.128 ♣	0.136 ♣	0.026
CSF y CSQ	-0.155	0.013	-0.140
CoBA y CoSF	-0.153	0.198	0.080
CoBA ,CoSF y Flu	-0.133	0.194	0.088
CSF, CSQ y Flu	-0.120	0.144	0.040
Solo con las poblaciones CoBA, CoSF, CSF y CSQ			
Loci	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
Alp-3	-0.379 ♣	0.023	-0.347 ♣
Hk	0.135	0.078	0.202
Idh-1	-0.247	0.037	-0.201
Idh-2	-0.099	0.114 ♣	0.026
Me	1.000 ♣	0.371 ♣	1.000 ♣
Mdh	-0.647 ♣	0.030 ♣	-0.647 ♣
Mpi1	-0.138	0.156 ♣	0.039
Pgi-1	-0.290 ♣	0.030	-0.251
Pgm-1	0.081	0.068	0.1435
Pgm-2	-0.480	0.218 ♣	-0.157
TOTAL	-0.152 ♣	0.112 ♣	-0.023
Promedio Jackknife	-0.156	0.113	-0.024
Error Estándar	0.111	0.033	0.125
Bootstrap	0.089	0.182	0.232
IC 95%	-0.361	0.060	-0.237

Frecuencias alélicas para *C. gnidia*.

Las frecuencias alélicas de las dos poblaciones de *C gnidia* se presentan en la Tabla XXII.

En la población de Laguna Agiabampo (GniLA) se obtuvieron resultados favorables en 9 de los 23 sistemas enzimáticos probados, de los cuales

solamente 1 loci fue monomórfico (*Me*). En la población de Tecapán (GniTe) se obtuvieron 11 loci polimórficos de 23 ensayados.

Las frecuencias del alelo más común en ambas poblaciones fueron similares entre si, a excepción de *Hk*, *Me* y *Mpi* en donde estas diferencias alélicas fueron significativas (Tabla XXII). Sin embargo, también se detectaron diferencias en la frecuencia de algunos alelos, aún cuando no fueron significativas, por ejemplo en *Mdh*^E (Tabla XXII).

Se observaron también cambios en la frecuencia del alelo más común entre ambas poblaciones de esta especie, por ejemplo en *Alp-2* fue mayor la frecuencia del alelo B en la población GniLA mientras que en GniTe los alelos A y B tuvieron la misma frecuencia. Otro cambio de frecuencia del alelo más común se observó en el locus *Idh-2*, en el cual el alelo *Idh-2*^A fue el más común en GniLA, el cual a diferencia del alelo *Idh-2*^B que fue el más común en GniTe. Este mismo patrón se observó en *Mdh* y *Mpi* en donde los alelos *Mdh*^E y *Mpi*^A de GniLA fueron los de mayor frecuencia, mientras que en la población GniTe tuvieron mayor frecuencia los alelos *Mpi*^F y *Mpi*^D (Tabla XXII).

Otra diferencia entre ambas poblaciones fue en el locus *Me*, que se mostró como monomórfico en la población GniLA mientras que en GniTe fue polimórfico, con la frecuencia del alelo más común (alelo C) de 0.719.

En dos loci, *Pgm-1* y *6Pgdh*, no se manifestó actividad después de la tinción histoquímica en la población GniLA pero si en GniTe (Tabla XXII).

Tabla XXII. Frecuencias alélicas, probabilidad para el ajuste al modelo de Hardy-Weinberg (HW) y coeficiente de endogamia (F_{IS}) para *C. gnidia*.

Locus	Alelo	Poblaciones	
		GniLA	GniTe
Organismos analizados		36	36
Alp-2	N	30	34
	A	0.400	0.500
	B	0.600	0.500
	HW	0.033	0.0002♣
	F_{IS}	-0.331	-0.638*
Alp-3	N	31	33
	A	0.484	0.545
	B	0.516	0.455
	HW	0.000♣	0.000♣
	F_{IS}	-0.678*	-0.703*
Hk	N	25	32
	A		0.422
	B	0.740	0.422
	C	0.260	0.156
	HW	0.173	0.000♣
	F_{IS}	-0.143*	0.853*
Idh-2	N	17	32
	A	0.529	0.469
	B	0.471	0.531
	HW	0.457	0.464
	F_{IS}	-0.151	-0.114
Mdh	N	36	36
	E	0.583	0.347
	F	0.417	0.653
	HW	0.391	0.014
	F_{IS}	-0.129	-0.398

Tabla XXII Continuación

Locus	Alelo	Poblaciones	
		GniLA	GniTe
Me	N	27	32
	C		0.719
	D	1.000	0.281
	HW		0.000♣
	F _{IS}		1.000*
Mpi	N	11	22
	A	0.500	0.023
	B	0.318	0.023
	C		0.205
	D	0.182	0.750
	HW	0.010	0.000♣
	F _{IS}	-0.117	-0.273*
Pgi-1	N	35	32
	A	0.343	0.313
	B	0.657	0.688
	HW	0.020	0.010
	F _{IS}	-0.383*	-0.442*
Pgm-1	N		20
	A		0.325
	B		0.675
	HW		0.366
	F _{IS}		0.227
Pgm-2	N	10	26
	A	0.850	0.596
	B	0.150	0.404
	HW	0.577	0.068
	F _{IS}	-0.125*	-0.341

Tabla XXII Continuación

Locus	Alelo	Poblaciones	
		GniLA	GniTe
6Pgdh	N		18
	A		0.361
	B		0.639
	HW		0.169
	F _{IS}		-0.299
Ind/locus		24.7	28.8
(ee)		(3.3)	(1.9)
Ho		0.487	0.515
(ee)		0.088	0.082
He		0.419	0.479
(ee)		0.062	0.019
F_{IS}		-0.258*	-0.085
F_{IS} Jackknife.		-0.257	-0.082
Desv. Est		0.070	0.185

Poblaciones: GniLA= *C. gnidia* de Laguna Agiabampo,
GniTe= *C. gnidia* de Tecapan.

N= organismos con tinción positiva para el locus.

* F_{IS} significativo. ♣ Desviación del modelo de Hardy-Weinberg.

Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada,
ee= error estándar.

En ambas poblaciones de *C. gnidia* se observaron desviaciones al modelo de Hardy-Weinberg debidas al exceso de heterocigotos significativo (*Alp-2* en GniTe, *Alp-3* en ambas poblaciones, *Mpi* en GniTe) o a su deficiencia significativa (*Hk* y *Me* en GniTe) (Tabla XXII).

En *Hk* y *Pgm-2* en GniLA y en *Pgi-1* en ambas poblaciones también se detectó un exceso de heterocigotos significativo aunque en todos estos casos no se registró una desviación al modelo de HW (Tabla XXII).

La heterocigosidad observada fue mayor a la esperada para las dos poblaciones, siendo la población GniTe la que mostró mayor heterocigosidad. El índice de endogamia F_{IS} por población mostró que en GniLA el exceso de heterocigotos fue significativo, no así para GniTe. En ambas poblaciones los cálculos del F_{IS} por medio del método de Jackknife mostraron valores cercanos a los observados (Tabla XXII).

Comparación de genotipos en *C. gnidia*.

Los genotipos obtenidos para las dos poblaciones de *C. gnidia* se presentan en la Tabla XXIII. Básicamente la diferencia entre la composición genotípica se debió a que algunos genotipos estuvieron ausentes en alguna población y presentes en la otra. Los loci en los que esta diferenciación genotípica resultó significativa fueron *Hk*, *Me*, *Mdh* y *Mpi*.

En el locus *Hk* los genotipos AA y AB no se observaron en GniLA pero si en GniTe, y el caso contrario se observó en este mismo locus en el genotipo BC que si se observó en GniTe pero no en GniLA, esta situación ocasionó que en este loci se manifestaran diferencias genotípicas significativas al aplicarse la prueba G (Tabla XXIII).

Tabla XXIII Comparación de los genotipos para dos poblaciones de *C. gnidia* (Genepop 3.3).

Locus	Genotipo	Poblaciones			
		GniLA		GniTe	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
Alp-2	A-A	2	4.678	3	8.373
	A-B	20	14.644	28	17.254
	B-B	8	10.678	3	8.373
Alp-3	A-A	1	7.131	4	9.692
	A-B	28	15.738	28	16.615
	B-B	2	8.131	1	6.692
Hk	A-A			12	5.571
	A-B			3	11.571
	A-C			0	4.286
	B-B	15	13.592	12	5.571
	B-C	7	9.816	0	4.286
	C-C	3	1.592	5	0.714
Idh-2	A-A	4	4.636	6	6.905
	A-B	10	8.727	18	16.190
	B-B	3	3.636	8	8.905
Me	C-C			23	16.429
	C-D			0	13.143
	D-D	27		9	2.429
Mdh	E-E	11	12.127	1	4.225
	E-F	20	17.746	23	16.549
	F-F	5	6.127	12	15.225

Tabla XXIII Continuación

Locus	Genotipo	Poblaciones			
		GniLA		GniTe	
		Frec obs	Frec esp	Frec obs	Frec esp
Mpi	A-A	3	2.619		
	A-B	5	3.667	1	0.023
	A-C			0	0.209
	A-D	0	2.095	0	0.767
	B-B	1	1.000	0	0.000
	B-C			0	0.209
	B-D	0	1.333	0	0.767
	C-C			0	0.837
	C-D			9	6.907
	D-D	2	0.286	12	12.279
Pgm-2	A-A	7	7.158	7	9.118
	A-B	3	2.684	17	12.765
	B-B	0	0.158	2	4.118
Pgi-1	A-A	1	4.000	0	3.016
	A-B	22	16.000	20	13.968
	B-B	12	15.000	12	15.016

Poblaciones: GniLA = *C. gnidia* de Laguna Agiabampo, Son; GniTe= *C. gnidia* de Tecapán. Frec obs= Frecuencia Observada, Frec esp= Frecuencia Esperada.

En el locus *Mdh* el genotipo más abundante en ambas poblaciones fue el heterocigoto EF, sin embargo la diferencia entre estas poblaciones se debió a que en GniLA el segundo genotipo más abundante fue el homocigoto EE, mientras que en GniTe lo fue el homocigoto FF (Tabla XXIII).

En el locus *Me* la diferencia residió en que en la población GniLA este locus fue monomórfico con el único genotipo DD, mientras que en la población

GniTe el genotipo más abundante fue el CC, seguido del genotipo DD (Tabla XXIII).

En *Mpi* la diferencia consistió en que la población GniLA presentó el homocigoto AA y el BB, a diferencia de la población GniTe que no presentó estos homocigotos. Aunque ambas poblaciones presentaron el genotipo DD, este genotipo fue más abundante en la población GniTe (Tabla XXIII).

Distancia de Nei en *C. gnidia*.

La distancia genética de Nei obtenida entre las poblaciones de *C. gnidia* fue de 0.239. Este valor de distancia fue grande si se considera que se calculó entre dos poblaciones de una misma especie. Sin embargo, cabe mencionar que para especie en particular no existió dificultad en cuanto a su identificación taxonómica, lo cual eliminó un posible error en el que se estuvieran analizando a dos especies diferentes. Las posibles causas de este resultado se discutirán más adelante.

Estadísticos F en *C. gnidia*.

Los estadísticos F entre las dos poblaciones de *C. gnidia* hicieron más evidente la diferencia genética encontrada. En la mayoría de los loci y en el promedio total de cada estadístico F, se obtuvieron casos significativos (Tabla XXIV).

Tabla XXIV Estadísticos F para *C. gnidia* (FSTAT 2.8).

Loci	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
<i>Alp-2</i>	-0.517 ♣	0.013	-0.498 ♣
<i>Alp-3</i>	-0.752 ♣	0.004	-0.745 ♣
<i>Hk</i>	0.670 ♣	0.195 ♣	0.735 ♣
<i>Idh-2</i>	-0.127	-0.013	-0.141
<i>Mdh</i>	-0.258	0.097 ♣	-0.137
<i>Me</i>	1.000 ♣	0.692 ♣	1.000 ♣
<i>Mpi</i>	0.061	0.400 ♣	0.436 ♣
<i>Pgi-1</i>	-0.410 ♣	-0.007	-0.420 ♣
<i>Pgm-2</i>	-0.302	0.113	-0.155
TOTAL	-0.126 ♣	0.207 ♣	0.106 ♣
Promedio	-0.129	0.212	0.120
Jackknife			
Error Estándar	0.168	0.094	0.214
Bootstrap	0.220	0.378	0.498
IC 95%	-0.397	0.046	-0.308

El coeficiente de endogamia individual por especie mostró que su promedio total fue significativamente diferente de cero ($F_{IS} = -0.126$), lo cual indicó una tendencia hacia el exceso de heterocigotos en esta especie. La misma situación fue observada en los loci *Alp-2*, *Alp-3* y *Pgi-1*. De manera contraria, los loci *Hk* y *Me* mostraron este coeficiente con una deficiencia de heterocigotos significativa (Tabla XXIV).

En relación al coeficiente de endogamia global (F_{IT}), se observó que los mismos loci, *Alp-2*, *Alp-3* y *Pgi-1* fueron significativos, pero a diferencia del F_{IS} , en el F_{IT} total de esta especie, se obtuvo un valor significativo tendiente a la

deficiencia de heterocigotos. En los loci *Hk*, *Me* y *Mpi* se obtuvieron también casos significativos con deficiencia de heterocigotos (Tabla XXIV).

En relación al índice de fijación (F_{ST}) los loci que resultaron significativos en estas poblaciones fueron *Hk*, *Mdh*, *Me* y *Mpi*, todos ellos con valores positivos (Tabla XXIV). Cabe señalar que estos mismos loci fueron los que indicaron una gran diferenciación génica y genotípica. El resultado total de este índice reveló una estructuración genética grande (Wright, 1978) lo cual evidenció la diferencia genética entre GniLA y GniTe.

Los promedios de los tres estadísticos F obtenidos por el método de Jackknife mostraron valores similares a los obtenidos por el método de Weir y Cockerman (1984), estos resultados y sus intervalos de confianza al 95 % calculados mediante Bootstrap, se presentan en la Tabla XXIV.

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.

Los resultados referentes al análisis morfométrico inician con una comparación del promedio del largo en aquellas especies con dos o más poblaciones y en seguida se muestran los promedios de las demás variables morfométricas. El orden de presentación de estos resultados sigue el mismo formato que en la sección previa.

Posteriormente se presenta el Análisis de Funciones Discriminantes (AFD) realizado con los datos morfométricos de las 11 poblaciones incluidas en esta investigación y subsiguientemente se muestran los resultados de los AFD intra e interespecíficos.

Promedios de las variables morfométricas.

***C. californiensis* y *C. subimbricata*.**

El largo promedio de las poblaciones de *C. californiensis* fue de 47, 45 y 45 mm (CaliLA, CaliSC y CaliLP respectivamente) mientras que en la población de *C. subimbricata* el promedio fue de 25 mm. Entre las tres poblaciones de *C. californiensis* no se encontraron diferencias significativas al aplicar un Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía por rangos de Kruskal-Wallis ($p = 0.182$) (Figura 12).

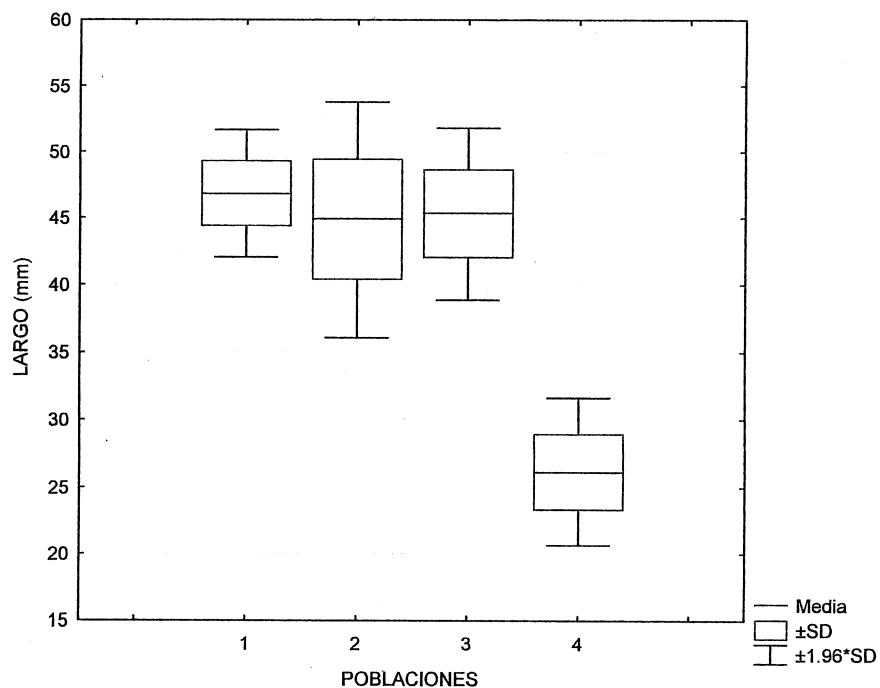


Figura 12 Largo promedio de la valva izquierda de las poblaciones de *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

Poblaciones:

C. californiensis: 1= CaliLA, 2= CaliSC, 3= CaliLP, *C. subimbricata*: 4= Sub

Los promedios de las 15 medidas morfométricas para estas poblaciones se presentan en la Tabla XXV.

Tabla XXV Promedios de las medidas morfométricas de las poblaciones de *C. californiensis* y *C. subimbricata* (músculo expresado en gramos, las demás medidas expresadas en milímetros, desviaciones estándar entre paréntesis).

	CaliLA	CaliSC	CaliLP	Sub
N	24	51	58	24
LARGO	46.842 (0.456)	44.916 (4.510)	45.336 (3.305)	25.940 (2.604)
MUSCULO	0.857 (0.296)	0.573 (0.216)	0.625 (0.130)	0.203 (0.163)
ALTO	43.240 (0.264)	40.587 (4.735)	43.121 (3.237)	21.995 (2.505)
ANCHO	30.200 (0.675)	25.244 (2.866)	27.068 (2.059)	16.274 (1.674)
AB	12.022 (0.720)	10.993 (1.257)	10.890 (1.023)	5.722 (0.647)
AC	8.123 (0.676)	7.447 (1.140)	7.577 (0.743)	4.372 (0.544)
AD	13.963 (1.348)	11.293 (2.113)	14.214 (1.456)	5.633 (0.640)
CD	14.759 (1.254)	12.103 (1.981)	14.664 (1.367)	6.994 (0.884)
DG	12.638 (1.166)	13.576 (1.748)	13.192 (1.383)	7.045 (0.884)
EF	11.275 (0.966)	9.883 (1.228)	10.497 (0.958)	5.676 (0.716)
EG	28.398 (1.432)	27.006 (3.101)	27.948 (1.979)	15.122 (1.496)
FH	25.501 (1.831)	23.967 (3.614)	24.692 (1.988)	13.981 (1.459)
GH	12.086 (1.161)	10.549 (1.776)	10.724 (0.975)	5.564 (0.576)
GI	10.673 (1.412)	8.882 (1.501)	9.188 (1.022)	4.258 (0.770)
HI	10.738 (0.854)	10.236 (1.373)	10.223 (0.985)	5.883 (0.758)

N= número de conchas medidas

***C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp.**

Las poblaciones de *C. cortezi* (CoBA y CoSF) tuvieron un largo promedio de 56 y 62 mm mientras que la de *C. fluctifraga* tuvo una talla promedio de 42 mm. En las poblaciones de *Chione* sp, CSF y CSQ la talla promedio fue de 46 mm (Tabla XXVI).

Tabla XXVI Promedios de las medidas morfométricas para las poblaciones de *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. (desviaciones estándar entre paréntesis).

	CoBA	CoSF	Flu	CSF	CSQ
N	28	32	61	30	35
LARGO	56.316 (6.993)	62.638 (4.234)	42.018 (2.220)	46.570 (3.396)	46.521 (4.088)
MUSCULO	1.271 (0.526)	1.823 (0.475)	0.569 (0.121)	0.577 (0.133)	0.670 (0.189)
ALTO	51.563 (7.709)	57.699 (4.337)	37.387 (1.779)	40.732 (2.768)	41.255 (3.754)
ANCHO	32.425 (3.759)	35.480 (2.630)	24.805 (1.505)	26.658 (1.660)	26.459 (2.383)
AC	6.186 (0.920)	7.179 (0.750)	4.924 (0.318)	5.189 (0.410)	5.259 (0.567)
AD	9.139 (1.828)	11.721 (1.573)	7.709 (0.810)	7.139 (0.635)	7.642 (0.881)
CD	10.008 (1.648)	11.825 (1.363)	8.923 (0.795)	8.302 (0.656)	8.670 (1.123)
DG	20.215 (2.762)	22.868 (1.659)	15.498 (1.208)	17.126 (1.440)	17.097 (1.964)
EF	15.218 (2.040)	17.371 (1.277)	10.942 (1.261)	12.149 (0.811)	12.544 (1.187)
EG	32.648 (3.827)	37.210 (2.775)	25.783 (1.636)	27.837 (1.985)	27.920 (2.473)
FH	32.416 (3.563)	36.557 (2.745)	25.034 (1.470)	28.167 (1.958)	28.130 (2.228)
GH	15.062 (2.140)	17.110 (1.301)	11.750 (0.860)	11.889 (0.791)	12.198 (1.079)
AJ	22.594 (3.508)	26.759 (2.265)	17.552 (1.425)	17.867 (1.449)	18.398 (1.906)

N= número de conchas medidas.

Las tallas de las dos poblaciones de *C. cortezi* mostraron diferencias significativas (ANOVA de una vía por rangos de Kruskal-Wallis, $p = <0.001$), mientras que las dos de *Chione sp.* no mostraron diferencias significativas en la talla (ANOVA de una vía $p=0.958$) (Figura 13).

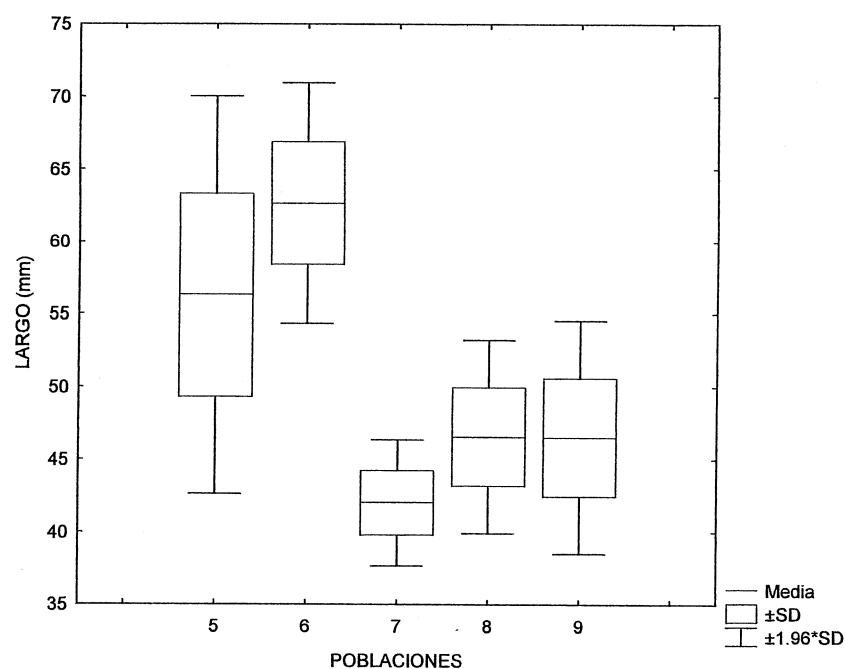


Figura 13 Largo promedio de la valva izquierda de las poblaciones de *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

Poblaciones:

C. cortezi: 5= CoBA, 6= CoSF., *C. fluctifraga*: 7= Flu, *Chione sp.*: 8= CSF, 9= CSQ.

C. gnidia.

Las poblaciones de *C. gnidia*, GniLA y GniTe tuvieron el largo promedio de 66 y 69 mm respectivamente, siendo ambos valores significativamente diferentes (ANOVA de una vía por rangos de Kruskal-Wallis, $p = 0.011$) (Figura 14).

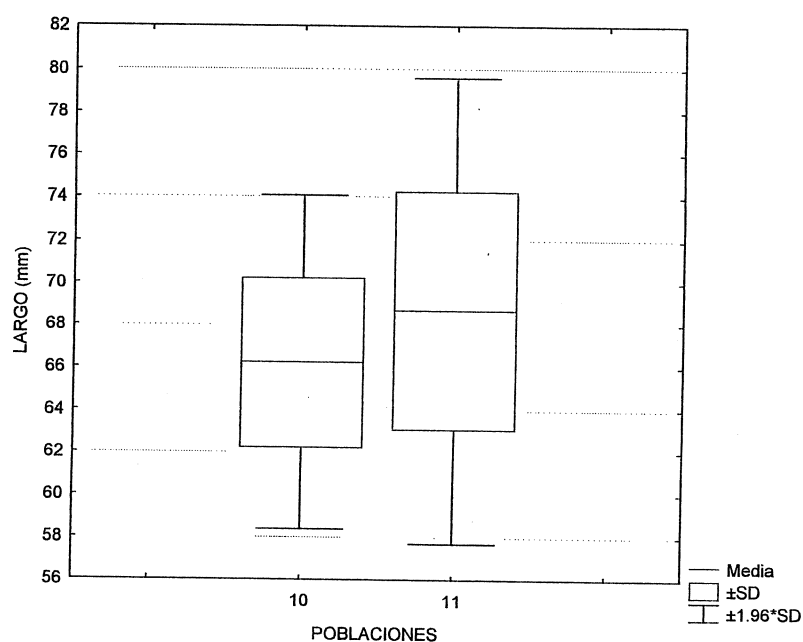


Figura 14 Largo promedio de la valva izquierda de las poblaciones de *C. gnidia*.

Poblaciones:

C. gnidia: 10= GniLA, 11= GniTe.

Las medias para las 15 medidas morfométricas se presentan en la Tabla XXVII.

Tabla XXVII Promedios de las medidas morfométricas para las poblaciones de *C. gnidia* (desviaciones estándar entre paréntesis).

N	GniLA	GniTe
	51	47
LARGO	66.224 (4.000)	68.658 (5.579)
MUSCULO	1.460 (0.388)	2.215 (0.633)
ALTO	59.678 (4.114)	63.189 (5.478)
ANCHO	40.101 (3.113)	42.806 (3.582)
AB	14.937 (1.557)	15.330 (1.421)
AC	8.101 (0.766)	9.147 (0.980)
AD	15.477 (1.674)	18.067 (1.761)
CD	16.924 (1.484)	18.924 (1.821)
DG	17.828 (2.014)	18.995 (1.919)
EF	14.201 (1.211)	15.793 (1.494)
EG	40.624 (3.000)	43.609 (3.833)
FH	39.656 (3.039)	40.877 (3.605)
GH	14.544 (1.406)	16.954 (1.675)
GI	10.113 (1.416)	10.386 (1.590)
HI	14.531 (0.983)	16.118 (1.433)

N= número de conchas medidas.

Análisis de Funciones Discriminantes.

Previo a los análisis de funciones discriminantes (AFD) se calcularon para cada una de las 11 poblaciones, las proporciones de cada medida morfométrica en relación al largo. Mediante un análisis de correlación simple se obtuvieron coeficientes bajos y no significativos entre las proporciones morfométricas (estos resultados no se presentan), lo cual indicó que se eliminó el efecto producido por la diferencia de tallas. Estas proporciones morfométricas se utilizaron en los subsiguientes análisis de funciones discriminantes.

AFD para once poblaciones de *Chione*.

El AFD se realizó con las once poblaciones de *Chione* para determinar la diferenciación morfológica entre las diferentes especies. Se utilizaron 11 proporciones morfométricas cuyo orden de importancia para la discriminación entre poblaciones fue: AC, CD y AD en la raíz canónica 1 y MUS y DG en la raíz canónica 2 (Tabla XXVIII).

Con estas 11 variables morfométricas fue posible diferenciar entre especies, asimismo se pudieron establecer las relaciones morfométricas entre ellas y en particular la posición de las dos poblaciones de *Chione sp.*

Tabla XXVIII Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para todas las poblaciones de *Chione*.

	Raíz 1	Raíz 2
MUS	0.073	0.384
AL	-0.070	0.018
AN	-0.082	0.119
AC	-0.536	-0.262
AD	-0.437	0.078
CD	-0.478	0.064
DG	0.414	-0.341
EF	0.271	-0.188
EG	-0.036	0.129
FH	0.214	0.198
GH	0.233	-0.159

En la Figura 15 se observa que la distribución de los datos de las once poblaciones se sitúa en tres grandes grupos, el primero entre las poblaciones de las especies *C. californiensis* y *C. subimbricata*, el segundo entre las poblaciones de las especies *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. y finalmente el tercer grupo en el cual se agruparon las dos poblaciones de *C. gnidia* de manera independiente.

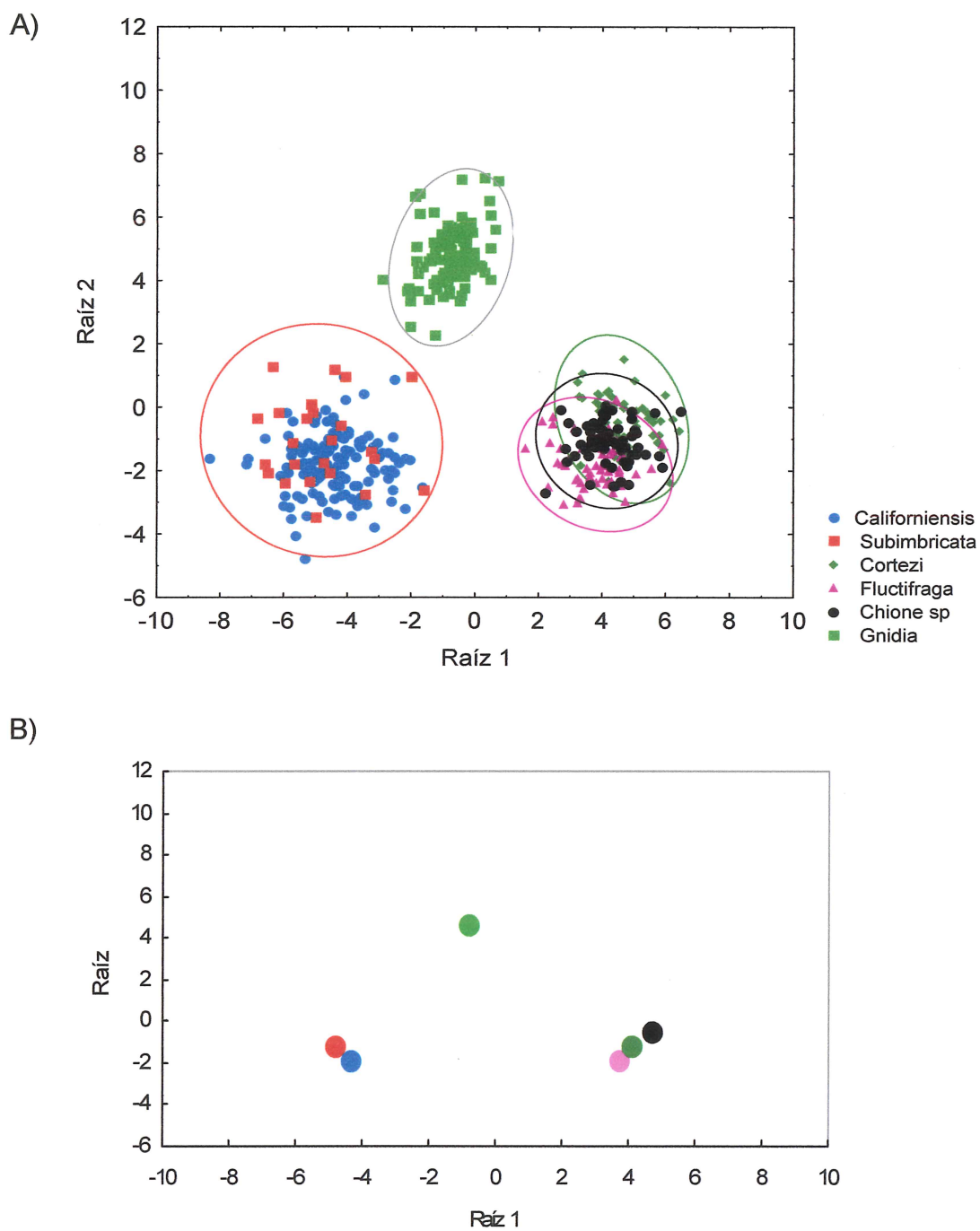


Figura 15 Gráfica del AFD de la raíz 1 contra la raíz 2 para todas las especies de *Chione*. A) Con todos los datos, y B) Promedio de las variables canónicas.

El porcentaje de clasificación obtenido en este AFD fue de 94.10 % (Tabla XXIX) lo cual confirmó que la clasificación de los organismos fue adecuada.

Las distancias cuadradas de Mahalanobis menores se obtuvieron entre las especies *C. californiensis* y *C. subimbricata* y entre *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. (Tabla XXX, Figura 16). Cabe destacar que *Chione* sp tuvo una distancia morfométrica menor con *C. fluctifraga* que con *C. cortezi*, sin embargo debido a los resultados obtenidos con las distancias genéticas de Nei, se planteó que estas poblaciones son *C. cortezi* aunque con una morfología "intermedia" entre *C. cortezi* y *C. fluctifraga*. Por su parte *C. gnidia* tuvo una distancia de entre 55 y 65 en relación al resto de las especies.

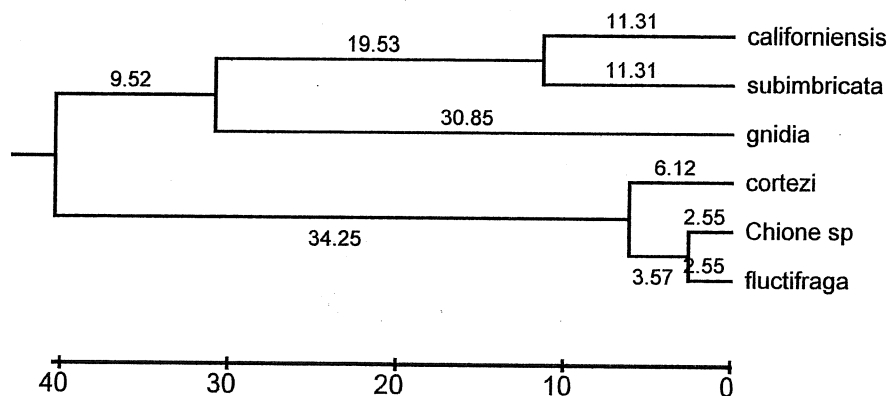


Figura 16 Dendrograma de las distancias de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos para todas las especies de *Chione*.

Tabla XXIX. Matriz de clasificación para todas las especies de *Chione* analizadas.

Especie	Observado	Esperado						
	N	Porcentaje Correcto	Cali p=0.302	Sub p=0.055	Cort p=0.137	Fluc p=0.138	<i>Chione sp</i> p=0.148	Gni p=0.222
Cali	133	94.49	131	2	0	0	0	0
Sub	24	100.00	0	24	0	0	0	0
Cort	60	83.33	0	0	50	0	10	0
Fluc	61	86.89	0	0	0	53	8	0
<i>Chione sp</i>	75	92.31	0	0	3	2	60	0
Gni	98	98.98	0	0	0	0	1	97
Total	441	94.10	131	26	53	55	79	97

N= número de conchas medidas.

Tabla XXX Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis para todas las especies de *Chione* analizadas.

Especie	californiensis	subimbricata	cortezi	flutifraga	<i>Chione sp</i>
subimbricata	22.63				
cortezi	87.27	116.54			
fluctifraga	72.50	92.49	15.80		
<i>Chione sp</i>	77.65	93.21	8.69	5.10	
gnidia	56.94	66.46	60.67	66.56	59.84

A continuación se presentan los AFD para aquellas especies con más de una población recolectada así como los AFD realizados a cada una de las tres agrupaciones obtenidas en el AFD previo, el cual incluyó a las once poblaciones.

C. californiensis.

Este AFD se realizó con 14 proporciones morfométricas de cada una de las tres poblaciones de *C. californiensis*. En orden de importancia, las variables que aportaron la mayor diferenciación entre poblaciones fueron AD, CD y AL, definidas en la raíz canónica 1 y AN, MUS y GI en la raíz canónica 2 (Tabla XXXI).

Tabla XXXI Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para las tres poblaciones de *C. californiensis*.

	Raíz 1	Raíz 2
MUS	-0.133	0.455
AL	-0.438	-0.100
AN	-0.314	0.550
AB	0.019	0.261
AC	-0.080	0.169
AD	-0.724	0.118
CD	-0.691	0.181
DG	0.141	-0.323
EF	-0.249	0.317
EG	-0.200	-0.058
FH	-0.094	0.039
GH	-0.063	0.379
GI	-0.098	0.433
HI	0.032	0.066

En la Figura 17 se observa la diferenciación de las tres poblaciones a partir del análisis morfométrico de estas 14 variables.

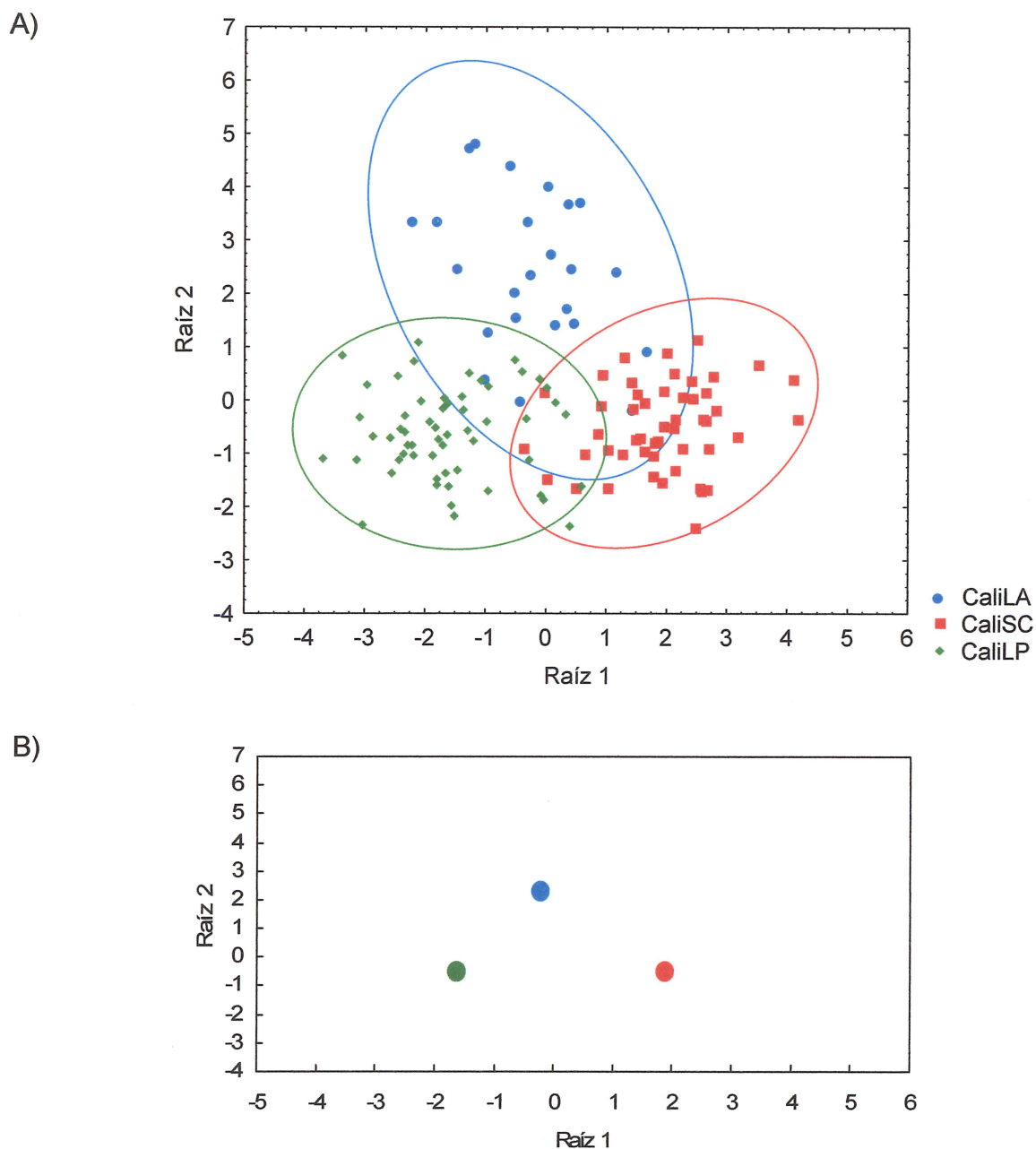


Figura 17 Gráfica del AFD de tres poblaciones de *C. californiensis*.
A) Con todos los datos, B) Promedios de las variables canónicas.

La clasificación de las poblaciones identificó correctamente a 92 % de los organismos (Tabla XXXII), sin embargo se obtuvieron algunos individuos clasificados en una población diferente a la que pertenecen.

Tabla XXXII Matriz de clasificación para tres poblaciones de *C. californiensis*.

Población	Observado	Esperado			
	N	% Correcto	CaliLA p=0.180	CaliSC p=0.384	CaliLP p=0.436
CaliLA	24	83.33	20	2	2
CaliSC	51	94.18	0	48	3
CaliLP	58	94.83	0	3	55
Total	133	92.48	20	53	60

N= número de conchas medidas

Las distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) mostraron valores similares entre las tres poblaciones de *C. californiensis*, sin embargo las poblaciones que más semejanzas morfológicas presentaron fueron la CaliLA y CaliSC (Figura 18).

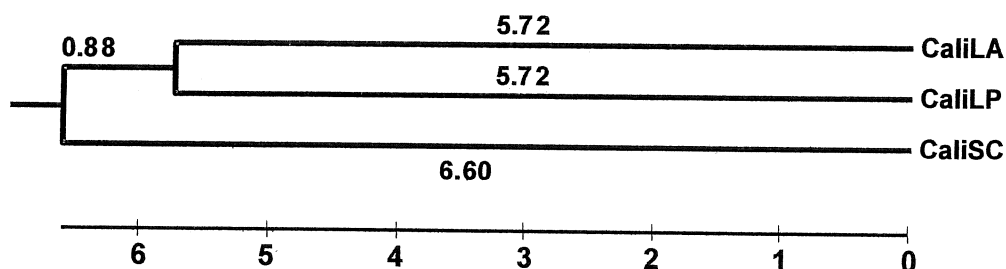


Figura 18 Dendrograma de las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos de *C. californiensis*.

***C. californiensis* y *C. subimbricata*.**

En este AFD se analizaron 14 proporciones morfométricas de las tres poblaciones de *C. californiensis* y la población de *C. subimbricata* y se encontró que las variables que en mayor medida discriminan entre las dos especies fueron AD y AL en la raíz canónica 1 y CD, AN y AD en la raíz canónica 2 (Tabla XXXIII).

Tabla XXXIII Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

	Raíz 1	Raíz 2
MUS	-0.230	-0.062
AL	-0.492	-0.176
AN	0.088	-0.517
AB	-0.155	0.112
AC	0.006	-0.089
AD	-0.580	-0.505
CD	-0.360	-0.606
DG	-0.087	0.277
EF	-0.141	-0.244
EG	-0.212	-0.080
FH	-0.025	-0.102
GH	-0.183	-0.038
GI	-0.261	-0.021
HI	0.007	0.019

Las 14 proporciones utilizadas en el AFD con la especie *C. californiensis* fueron útiles también para discriminar entre esta especie y *C. subimbricata* como se aprecia en la Figura 19.

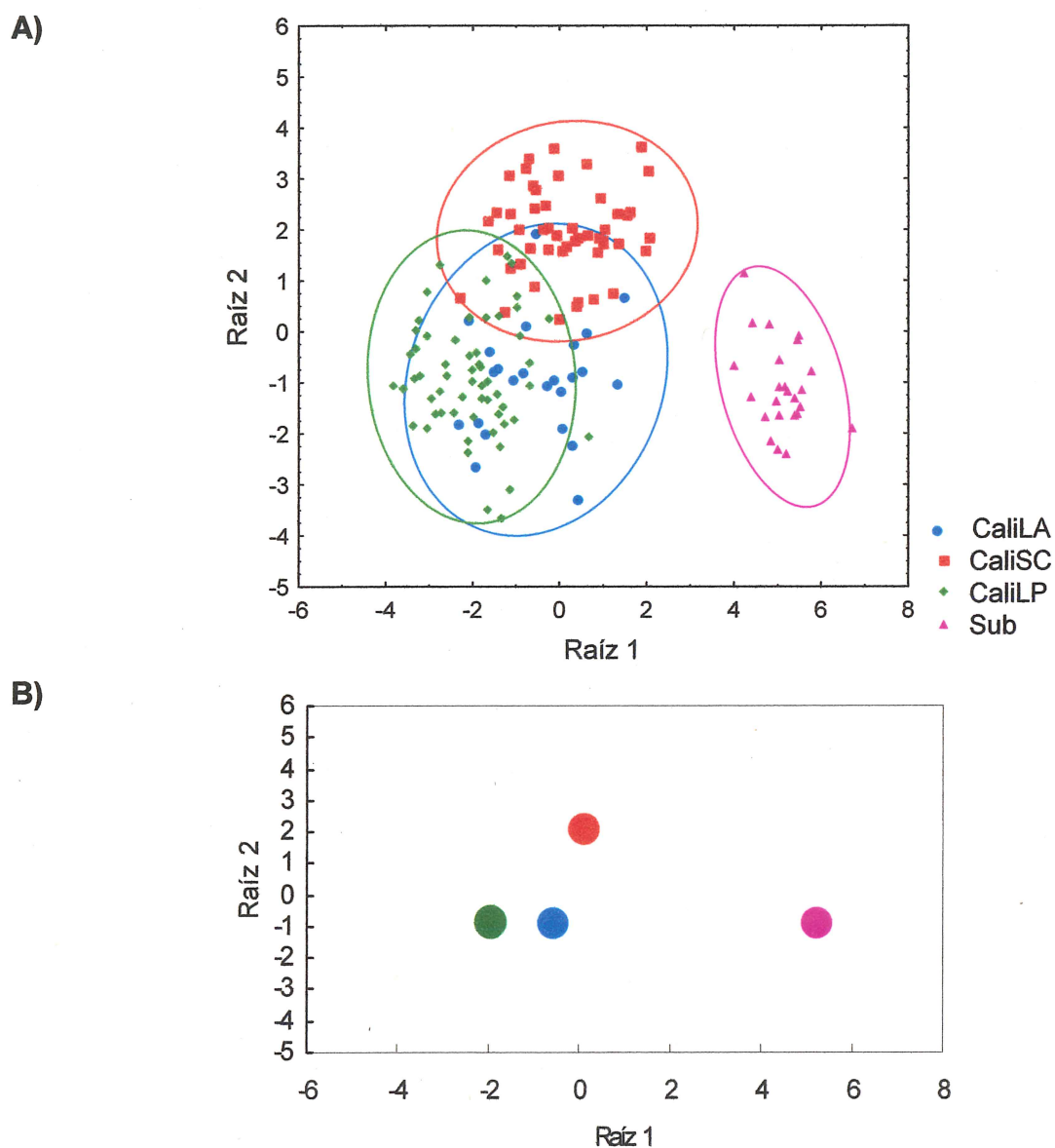


Figura 19 Gráfica del AFD de la raíz 1 contra la raíz 2 para las tres poblaciones de *C. californiensis* y la de *C. subimbricata*. A) Con todos los datos y B) Promedio de las variables canónicas.

En este AFD el porcentaje de clasificación obtenido a partir de las distancias cuadradas de Mahalanobis fue de 92 % y no se obtuvieron ejemplares de *C. californiensis* clasificados en la población de *C. subimbricata* (Tabla XXXIV).

Tabla XXXIV Matriz de clasificación para *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

Población	Observado	Esperado				
	N	% correcto	CaliLA p=0.153	CaliSC p=0.325	CaliLP p=0.370	Sub p=0.153
CaliLA	24	83.33	20	2	2	0
CaliSC	51	94.11	0	48	3	0
CaliLP	58	91.38	1	4	53	0
Sub	24	100.00	0	0	0	24
Total	157	92.35	21	54	58	24

N= número de conchas medidas

Las distancias cuadradas de Mahalanobis entre las dos especies (interespecíficas) estuvieron en un rango de 34 a 52, mientras que las distancias entre poblaciones del mismo género (intraespecíficas) estuvieron en un intervalo de entre 11 y 14 (Tabla XXXV) de manera similar a las que se obtuvieron en el anterior AFD para las tres poblaciones de *C. californiensis*.

Tabla XXXV Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis para *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

Población	CaliLA	CaliSC	CaliLP
CaliSC	14.381		
CaliLP	11.425	13.861	
Sub	40.501	34.886	52.395

El gráfico de las D^2 reflejó nuevamente que la morfometría de CaliLA y CaliLP fue similar y en menor magnitud con CaliSC, mientras que *C. subimbricata* se mantuvo morfométricamente distante de las tres poblaciones de *C. californiensis* (Figura 20).

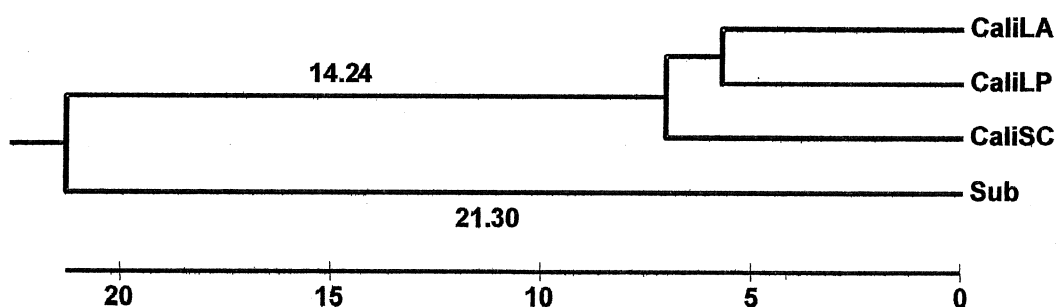


Figura 20 Dendrograma de las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos de *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

***C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp.**

El segundo grupo resultante en el AFD que incluyó a las once poblaciones correspondió a las poblaciones de *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. con las que se realizó un AFD en el que se incluyeron 12 variables. En este análisis se evidenció que estas poblaciones tienen una morfometría muy similar, no obstante, las variables que contribuyen en mayor medida a discriminar entre

ellas fueron MUS, AL (en la raíz canónica 1) y AD, CD, GH y AJ (en la raíz canónica 2) (Tabla XXXVI).

Tabla XXXVI Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

	Raíz 1	Raíz 2
MUS	0.853	0.218
AL	0.382	0.221
AN	-0.157	0.240
AC	-0.081	0.241
AD	0.080	0.605
CD	-0.254	0.612
DG	-0.066	0.026
EF	0.163	-0.036
EG	-0.221	0.216
FH	-0.232	-0.181
GH	-0.006	0.556
AJ	0.135	0.473

Las dos poblaciones de *C. cortezi* se agruparon en una nube de datos muy próxima pero distinguible de la población de *C. fluctifraga* (Figura 21). Ambas poblaciones de *Chione sp.* se traslaparon con la nube de datos de *C. cortezi* y en menor magnitud se observó un traslape de éstas con *C. fluctifraga*.

El porcentaje de clasificación para estas cinco poblaciones fue de 79.57 %, lo cual indicó que la clasificación de los organismos se hizo adecuadamente (Tabla XXXVII).

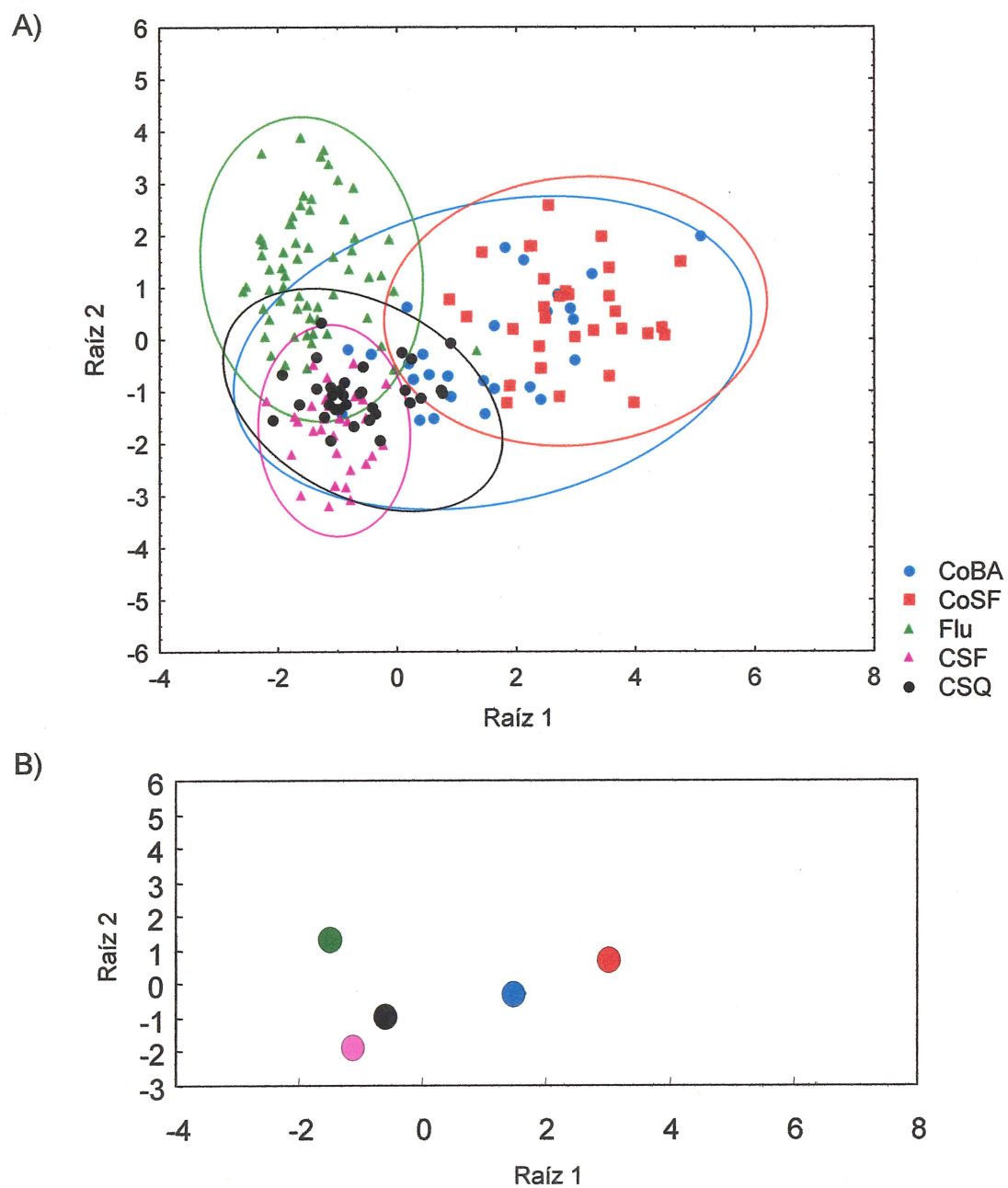


Figura 21 Gráfica del AFD de la raíz 1 contra la raíz 2 para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione* sp. A) Con todos los datos, y B) Promedio de las variables canónicas.

Tabla XXXVII Matriz de clasificación para *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

Observado		Esperado					
Población	N	Porcentaje Correcto	CoBA p=0.151	CoSF p=0.172	Flu p=0.328	CSF p=0.161	CSQ p=0.188
CoBA	28	64.29	18	5	1	2	2
CoSF	32	87.50	4	28	0	0	0
Flu	61	91.80	1	0	56	0	4
CSF	30	63.33	0	0	0	19	11
CSQ	35	77.14	0	0	1	7	27
Total	186	79.57	23	33	58	28	44

N= número de conchas medidas.

Los resultados de las distancias cuadradas de Mahalanobis (Tabla XXXVIII) indicaron la presencia de dos subgrupos, el primero entre las poblaciones de *Chione sp.* (CSF y CSQ) quienes presentaron la menor distancia morfométrica; el segundo subgrupo lo constituyeron las poblaciones de *C. cortezi* (CoBA y CoSF). Finalmente, la población Flu se unió a las poblaciones CSF y CSQ, cual indicó que las poblaciones de *Chione sp.* presentaron una morfometría más cercana a *C. fluctifraga*.

En el dendrograma construido con estas distancias morfométricas se observó la separación de estos grupos, y de igual manera que en la distancia genética, la población CSQ que se obtuvo del cultivo de San Quintín es originaria de alguna población cercana a San Felipe (Figura 22).

Tabla XXXVIII Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis para las poblaciones de *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

Población	CoBA	CoSF	Flu	CSF
CoSF	6.111			
Flu	13.560	21.316		
CSF	11.224	22.636	10.112	
CSQ	8.281	16.245	7.499	1.026

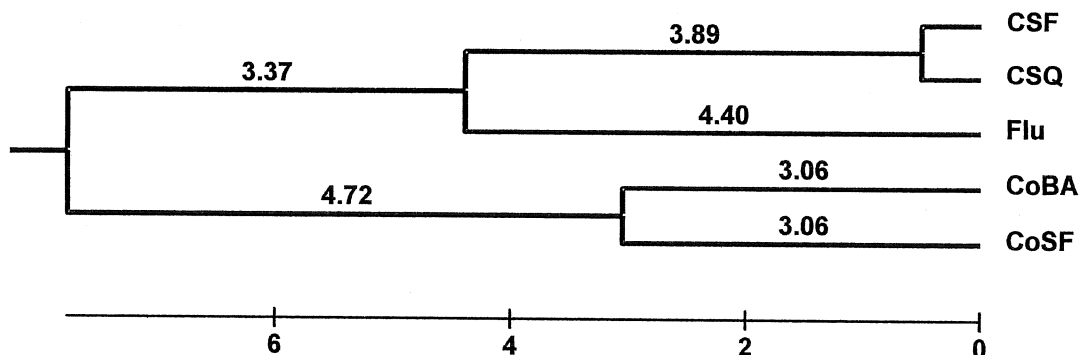


Figura 22 Dendrograma de las distancias de Mahalanobis obtenidas de los datos morfométricos de *C. cortezi*, *C. fluctifraga* y *Chione sp.*

C. gnidia.

En el caso de esta especie el AFD solo proporcionó una raíz debido a que se analizaron solo dos poblaciones, las proporciones morfométricas que discriminan entre ellas en orden de importancia fueron GH, MUS, AD, HI, EF y AC (Tabla XXXIX).

La matriz de clasificación ubicó correctamente al 95 % de los organismos, e individualmente se clasificaron al 90 y 100 % para las poblaciones de GniLA y GniTe respectivamente (Tabla XL).

La distancia cuadrada de Mahalanobis entre estas dos poblaciones fue de 12.47, distancia similar a la encontrada entre las poblaciones de *C. californiensis*.

Tabla XXXIX Matriz de la estructura de Factores (variables de correlación-raíces canónicas) para las poblaciones de *C. gnidia*.

	Raíz 1
MUS	-0.503
AL	-0.212
AN	-0.201
AB	0.037
AC	-0.348
AD	-0.459
CD	-0.366
DG	-0.099
EF	-0.375
EG	-0.280
FH	0.047
GH	-0.684
GI	0.023
HI	-0.438

Tabla XL Matriz de clasificación para *C. gnidia*.

	Observado	Esperado		
	N	Porcentaje Correcto	GniLA p= 0.520	GniTe p= 0.480
GniLA	51	90.20	46	5
GniTe	49	100.00	0	47
Total		94.90	46	52

N= número de conchas medidas.

V. DISCUSION.

ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO.

Desde la aparición del género *Chione* en el Atlántico Occidental durante el Oligoceno Temprano, hasta la actualidad, este género han podido incursionar en aguas tropicales, subtropicales así como en las templado-cálidas.

El origen de los subgéneros *Lirophora*, *Puberella*, *Chionopsis*, *Chione s. s.* y *Panchione* ocurrió en el Atlántico Occidental, mientras que solamente dos subgéneros (*Chionista* e *Ilioichione*) se originaron en el Pacífico.

Los subgéneros *Lirophora*, *Chionopsis*, *Chione s. s.* y *Panchione* cuyo centro de origen es la región del Atlántico Occidental Tropical colonizaron el Pacífico Oriental Tropical gracias al patrón de corrientes oceánicas que comunicaba entre sí a los dos océanos (Chirat, 2000).

Como se señaló anteriormente, debido a la disminución de la temperatura y al decremento de la productividad durante el Plioceno Tardío (Allmon *et al*, 1993), los subgéneros *Lirophora*, *Chionopsis* y *Panchione* exhibieron elevadas tasas de extinción en las Provincias Caloosahatchiana y Gatuniana del Atlántico Occidental Tropical y posteriormente quedaron restringidos al Pacífico Oriental Tropical.

En este sentido, Stanley (1984) señaló que los cambios climáticos no afectaron tan severamente al subgénero *Chione s. s.* ya que desde el Plioceno Temprano se distribuyó en ambos océanos. Probablemente los representantes

euritéricos de este subgénero pudieron sobrevivir a este enfriamiento global, o bien pudo haber ocurrido una supervivencia diferencial entre los representantes de las latitudes más sureñas (Ecuador). La mayoría de los representantes actuales de este subgénero tienen una amplia distribución (*C. californiensis*, *C. undatella* y *C. subimbricata*) mientras que la menor parte (*C. tumens*) son de distribución más restringida.

Con referencia a los subgéneros *Chionista* e *Ilioichione* sus registros más antiguos datan del Plioceno Tardío en depósitos de Baja California. Ambos subgéneros muy probablemente habitaron esta región desde que ya tenía la configuración o línea de costa que tiene en la actualidad. El subgénero *Chionista* está formado únicamente dos especies actuales: *C. fluctifraga* y *C. cortezi*. El caso particular de *C. cortezi* es probable que la distribución referida por Keen (1971) haya sido considerada tomando en cuenta la distribución de *C. fluctifraga*, especie con la que en algunas ocasiones ha sido confundida. Villarreal-Chávez *et al.*, (1999) consideraron a *C. cortezi* como una especie endémica del Alto Golfo de California y mencionaron probablemente haya sufrido una reducción de su área de distribución. Sin embargo, en la presente investigación, al estudiar la genética y la morfometría de ésta y de otras especies de este mismo género, se plantea una nueva hipótesis en la cual se propone que *C. cortezi* está en proceso de diferenciación a partir de *C. fluctifraga*.

Del subgénero *Iliochione* el registro encontrado como más antiguo corresponde al Plioceno Tardío, y actualmente solo existe un representante: *C. subrugosa*, especie considerada de amplia distribución.

En relación a la distribución de las especies intermareales de *Chione*, se logró determinar que los límites de distribución al Norte tienen coinciden con la isoterma de invierno de 15 ° C (Costas de California), con la isoterma de invierno de 20 ° C (BCS) y con la corriente de California. Los límites de distribución hacia el Sur coinciden con la corriente de Perú, las isotermas de verano e invierno de 20 ° C y la Corriente de Costa Rica que a su vez favorece la dispersión de algunas especies hacia el Golfo de California.

Otro factor que también puede estar influyendo en la distribución de estas especies es la diferencia en la extensión de la plataforma continental entre la costa Oriental del Pacífico y la costa occidental del Golfo. La primera presenta una plataforma continental más amplia mientras que la segunda es de tipo rocoso y más delgada (Álvarez-Borrego, 1983) lo cual puede implicar un mayor nivel de competencia por algún recurso (espacio o alimento), o bien puede ser que exista algún determinado factor de presión ecológica, lo cual a pesar de no estar documentado, es probable. De igual manera, es probable que puedan existir diferencias en la distribución de una especie en función del tipo de sustrato, particularmente en aquellas especies que habitan dentro del Golfo de California, ya que en la costa Continental el tipo de sustrato predominante es arenoso, mientras que en la costa de la Península es mayoritariamente rocoso (Tchernia, 1980). No obstante, dentro de las búsquedas bibliográficas sobre la

distribución de las especies de *Chione*, no se encontró información que apoyara esta hipótesis.

Otro aspecto que es importante destacar es que los especies históricamente más antiguas tienen mayor amplitud en su distribución geográfica actual, es decir *Chione* s. s. (*C. californiensis* y *C. subimbricata*) (5-2 Ma) seguidas de *Chionopsis* (*C. gnidia*) (2 Ma) y finalmente *C. fluctifraga* y *C. cortezi* (1.7 Ma). Este hecho debido muy probablemente a que han tenido las condiciones y el tiempo suficiente para colonizar y ampliar su rango de distribución, a diferencia de las especies más recientes que probablemente estén en proceso de expansión.

Al considerar lo anteriormente mencionado, el análisis presentado es esta investigación es un punto de partida para incrementar el conocimiento de la biogeografía de *Chione* tanto de las especies que existieron en el pasado, como de las especies actuales.

ANÁLISIS GENÉTICO.

La presente investigación fue un punto de inicio hacia el conocimiento de la genética de poblaciones del género *Chione* debido a que hasta el momento no existen estudios sobre la composición y estructura genética de este género. De esta manera se contribuirá sustancialmente con información científica sólida

que indudablemente propiciará la formulación de lineamientos tendientes al manejo adecuado de este recurso.

De acuerdo con lo anterior, se han considerado como antecedentes y puntos de referencia para esta investigación algunas publicaciones de otros grupos de moluscos, tal es el caso de bivalvos venéridos (Passamonti *et al.*, 1999), bivalvos ostreidos (Day *et al.*, 2000; Correa *et al.*, 2004) así como algunos gasterópodos (Brown, 1991; Mgaya *et al.*, 1995; Bandoni *et al.*, 1995; Wilson, 1996; Del Río-Portilla y González-Avilés, 2001).

Con el fin de sistematizar y darle un orden lógico a la discusión de esta sección, se lleva a cabo por especies que pertenecen a un mismo subgénero. Finalmente se hace un análisis comparativo entre subgéneros y su subsecuente discusión.

***C. californiensis* y *C. subimbricata*.**

Los resultados de las frecuencias alélicas evidenciaron la presencia de un locus diagnóstico entre *C. californiensis* y *C. subimbricata* en donde la frecuencia del alelo *Sod-1^B* fue diferente entre ambas especies. También fue posible detectar la existencia de diferentes patrones de distribución geográfica del alelo más común en los loci ensayados.

No obstante de que para estas dos especies no se han encontrado publicaciones que indiquen dificultades en su clasificación taxonómica, este locus puede ser de gran utilidad si se llegara a trabajar únicamente con

muestras de tejidos de organismos adultos en los cuales no se contara con las valvas o bien en estadios tempranos del desarrollo de estas especies, en los cuales la identificación taxonómica eventualmente pudiera dificultarse.

Debido a la existencia de loci que se desviaron del modelo de Hardy-Weinberg con exceso significativo de heterocigotos (*Est-3* en las tres poblaciones de *C. californiensis*) y deficiencia significativa de heterocigotos (*Me* en las 4 poblaciones) se puede inferir que las poblaciones de estas dos especies se encuentran fuera del equilibrio de HW. Solamente la población CaliSC presentó un coeficiente de endogamia (F_{IS}) que indicó una deficiencia de heterocigotos global significativa, condición que es común entre bivalvos marinos (Zouros y Foltz, 1984; Raymond *et al.*, 1997).

Para las poblaciones de *C. californiensis* y *C. subimbricata* se obtuvieron niveles de heterocigosidad observada elevados (0.44) en relación a los reportados para alozimas en invertebrados marinos (0.061-0.216; Fujino *et al.*, 1983), abulón (0.03-0.24; Brown, 1993) y ostión (0.27-0.29 en *Crassostrea gigas*; English *et al.*, 2000). De igual manera los valores de heterocigosidad de *Chione sp.* fueron superiores a los reportados con alozimas en venéridos (*Tridacna maxima* He media= 0.220, Ayala *et al.*, 1973; *Ruditapes philippinarum* He media= 0.248, Oniwa *et al.*, 1988; ambos citados en Sato, 1996) y en *Phacosoma japonicum* (He media=0.15; Sato, 1996).

Los valores elevados de heterocigosidad obtenidos en esta investigación, se pueden explicar por diferentes causas. Una de ellas fue el hecho de que

todos los loci analizados fueron polimórficos, lo cual incrementa los valores de heterocigosidad, sin embargo la elección de las enzimas se realizó al azar y sin conocimiento previo de que serían polimórficos. Es también factible que tal condición heterocigota le sea favorable a estas especies para enfrentar al medio ambiente.

Los loci *Mdh* y *Me* mostraron una diferenciación génica y genotípica en las poblaciones de *C. californiensis*, la población CaliSC fue la que más genotipos exhibió en *Me* (6 genotipos) y en *Mdh* (4 genotipos). Además *Mdh* presentó exceso de heterocigotos y *Me* deficiencia de heterocigotos, ambos en las tres poblaciones. Estas enzimas son extramitocondriales y tienen función oxidoreductasa. MDH forma parte del ciclo del ácido cítrico y está involucrada en la oxidación del NADH en la cadena respiratoria, ME esta involucrada en la vía de la pentosa fosfato para la utilización de la glucosa (Murray *et al.*, 1997). Dada la importancia metabólica de estas enzimas, se puede plantear la existencia de un efecto selectivo del ambiente sobre la expresión genotípica de ciertos alelos, lo cual podría analizarse con estudios de cinética enzimática. Con éstos se podría cuantificar el efecto del ambiente (por ejemplo la temperatura) sobre la actividad metabólica de estas enzimas y como es que de manera particular, ciertas poblaciones de esta especie se han adaptado y presentan variación genética que les permite sobrevivir ante condiciones particulares de su ambiente.

Los resultados del índice de fijación (F_{ST}) indicaron que las tres poblaciones analizadas de *C. californiensis* presentaron una poca estructuración genética (Wright, 1978). Estos resultados se pueden explicar si se consideran y analizan diferentes aspectos:

1) Que el origen de esta especie haya sido en un tiempo geológico reciente, lo cual aún no se ha reflejado en una marcada diferenciación y mayor estructuración genética,

2) Que dentro del rango del área de distribución de la especie (desde California, E. E. U. U. hasta Perú) los organismos analizados representen solo una fracción dentro de la cual se detectó poca variación genética con los marcadores utilizados en esta investigación (alozimas),

3) Existe la posibilidad de que entre poblaciones geográficamente cercanas de esta especie, se mantenga un flujo genético favorecido por las corrientes oceánicas.

Cabe señalar que algunos estadísticos utilizados en genética (F_{ST} , G_{ST} , θ , o R_{ST}) han sido utilizados como indicadores de flujo genético entre poblaciones; sin embargo, estos coeficientes deben ser interpretados con precaución ya que, en ocasiones, dependiendo de la resolución de los marcadores moleculares que se utilicen, se puede hacer inferencias erróneas sobre la estructura genética de las poblaciones (Bossart y Prowell, 1998).

Con respecto a la primera consideración sobre el origen de la especie, es posible que haya iniciado su divergencia geográfica antes del Plioceno

Temprano (5.2-2.5 Ma). Esto se deduce a partir de que, desde el Plioceno Temprano se registra la presencia del subgénero *Chionopsis* y los registros más antiguos de *C. californiensis* para esta región datan del Plioceno Tardío hace 2.4 Ma (Roopnarine, 1996), periodo en el cual el Golfo de California ya tenía la configuración actual (Gastil *et al.*, 1979). De acuerdo con lo anterior se propone que las diferencias genéticas entre las dos poblaciones del Golfo y la del sur de la Península pueden ser producto de su divergencia, ocurrida en un tiempo geológico relativamente reciente.

Para validar la segunda consideración, sería necesario analizar otras poblaciones tanto de ubicación intermedia, como de poblaciones ubicadas hacia los extremos norte y sur del área geográfica de *C. californiensis*. De esta manera se podría verificar si existe o no estructuración dentro del área geográfica que se consideró en esta investigación.

En relación a la tercera consideración, es probable que las condiciones actuales de la región influyan sobre los organismos en diferentes poblaciones y produzcan poca diferenciación genética como la aquí obtenida, tal y como se ha reportado para varias especies animales (Burton, 1983) y como se encontró en las especies *Phacosoma japonicum* (Sato, 1996), *Cepaea nemoralis* (Wilson, 1996) y *Varicorhinus barbatulus* (Wang *et al.*, 2004) entre otros.

Otro factor que puede actuar directamente sobre las alozimas o bien en características y rasgos directamente ligadas a éstas es la selección, tal y como lo señaló Parker *et al.* (1998).

De esta manera cabe mencionar las características oceanográficas de las localidades de donde proceden los organismos y que eventualmente pudieran incidir en el proceso de selección.

La existencia de flujo genético entre los organismos de las diferentes poblaciones es posible dada su ubicación geográfica; sin embargo, el flujo genético de la población CaliLA en relación a las poblaciones CaliSC y CaliLP pudiera estar restringido o ser nulo debido a que el flujo de agua del Golfo de California hacia la Laguna Agiabampo está parcialmente limitado por dos barreras litorales constituidas por algunas series de antiguos cordones de playa y dunas (Ayala-Castañares *et al.*, 1990). Además de estas condiciones, el ingreso de la marea se limita por la poca profundidad de la laguna y por los abundantes depósitos sedimentarios formados en las proximidades de la boca lo cual muy probablemente haría disminuir el eventual flujo de larvas de esta localidad con otras cercanas. Se ha demostrado que esta localidad es un sistema lagunar ecológicamente inestable debido al impacto generado por la apertura artificial de una boca lagunar en la década de los 80's y a la fecha, se desconoce si ha logrado recuperar su estabilidad (Ayala-Castañares *et al.*, 1990).

Entre las poblaciones CaliSC y CaliLP el flujo genético pudiera ser mayor ya que en la boca del Golfo de California y la porción sur de la Península de Baja California convergen aguas provenientes de la Corriente de Costa Rica (CCR) (tropicales y subtropicales) y de la Corriente de California (CC) (aguas templado cálidas), el flujo hacia adentro del Golfo ocurre cerca de Sinaloa y el

flujo hacia afuera ocurre a lo largo de Baja California (Castro *et al.*, 2000). De esta manera, la dirección e intensidad de las masas de agua hacen probable el transporte de larvas entre estas poblaciones en mayor medida que entre estas y la población CaliLA.

En relación a los coeficientes de endogamia (F_{IS} y F_{IT}) para *C. californiensis*, mostraron una tendencia general a la deficiencia de heterocigotos, condición común en bivalvos marinos (Zouros y Foltz, 1984). Además indicaron un porcentaje de endogamia individual de 12% y global de 16% en las poblaciones.

Para explicar la deficiencia de heterocigotos en poblaciones naturales se han propuesto diversas hipótesis las cuales comprenden: autofecundación, presencia alelos nulos, fenómenos a nivel cromosómico (aneuploidias), sesgo en el muestreo, efecto Wahlund y selección en contra de un alelo o genotipo particular (Zouros y Foltz, 1984; Raymond *et al.*, 1997). Los resultados encontrados en la presente investigación sugieren como posibles causas de la deficiencia de heterocigotos el efecto Wahlund, debido a que es posible la incorporación de individuos de distintas cohortes y con frecuencias alélicas diferentes en una misma muestra, así como selección en contra de los heterocigotos.

Los resultados del índice de fijación (F_{ST}) indicaron poca diferenciación geográfica entre las poblaciones de *C. californiensis*. Considerando lo anterior y además los resultados de los coeficientes de endogamia F_{IS} y F_{IT} , es posible

afirmar que las diferentes poblaciones están estructuradas y presentan endogamia.

C. cortezi, C. fluctifraga y Chione sp.

Con el análisis genético de alozimas se encontraron evidencias que indican que existe una diferenciación genética entre las especies *C. cortezi* y *C. fluctifraga*. De igual manera con este análisis es posible determinar que las dos poblaciones señaladas como *Chione sp.* (CSF y CSQ) pertenecen indudablemente a la especie *C. cortezi*. Estas afirmaciones se sustentan en lo siguiente:

1) La presencia de alelos diagnósticos Mdh^A , Mdh^B , Mdh^C y Mdh^D que se presentan únicamente en la especie *C. fluctifraga* los cuales pueden ser de gran utilidad para diferenciar esta especie de *C. cortezi*.

2) El locus *Idh-2* en *C. fluctifraga* es monomórfico y el locus *Pgi-2* reveló solamente en esta especie.

3) En el locus *Pgi-2* se observaron los genotipos AA, AB y BB solamente en la población de *C. fluctifraga*, de manera que pueden ser indicadores para diferenciar esta especie, tanto de *C. cortezi*, como de las demás especies consideradas en este estudio.

Al obtener seis casos de desviación al modelo de HW por exceso de heterocigotos significativo y 10 casos por deficiencia de heterocigotos significativa, se puede afirmar que las poblaciones de estas especies se

encuentran en desequilibrio de HW. No obstante, existe una tendencia hacia el exceso de heterocigotos ya que en los valores F_{IS} por población se muestran valores negativos, sin embargo en ningún caso resultó ser significativo este coeficiente. De los casos que muestran desviación significativa del modelo de HW, los loci *Mdh* y *Me* presentan el mismo patrón que en *C. californiensis*, de manera que esta situación deberá analizarse con mayor detalle en futuras investigaciones.

De la misma manera que en *C. californiensis* y *C. subimbricata*, los resultados de heterocigosidad que se obtuvieron para cada población, mostraron valores elevados en comparación a los niveles de heterocigosidad para otros invertebrados marinos, incluyendo abulón, ostión y bivalvos marinos de la misma familia que *Chione*, como se ha mencionado con anterioridad.

Los resultados de distancia genética indican que la población Flu tuvo un intervalo de distancia con las poblaciones de *C. cortezi* y *Chione sp.* de entre 0.30 a 0.23, mismo que indica que *C. fluctifraga* y *C. cortezi* son especies distintas. Este hecho se corroboró con la distancia obtenida entre las poblaciones de *C. californiensis* (0.04 a 0.10) y las de *C. cortezi* incluyendo a las poblaciones de *Chione sp.* (0.01 a 0.19) en las cuales ningún valor de distancia superó 0.3 .

Dentro de las poblaciones de *C. cortezi*, cabe señalar que la población CSQ se obtuvo del maricultivo que se practica en San Quintín, pero según los datos proporcionados por los trabajadores que donaron los especímenes, la

semilla provenía del Alto Golfo de California aunque no precisaron el lugar exacto de su extracción. Con los resultados y valores de referencia obtenidos mediante alozimas, es posible inferir que esta población CSQ fue extraída del Puerto de San Felipe o de alguna localidad muy cercana, ya que el valor de distancia genética (0.010) entre las poblaciones CSF y CSQ indica que provienen de una misma población. Estas poblaciones son genéticamente más similares a CoSF que a CoBA, y esto puede ser debido a que la distancia geográfica de esta última (174 Km por línea de costa) es mayor y es posible que influyan otros factores oceanogeográficos que limiten el flujo genético entre Bahía Adair y San Felipe.

Con los diferentes cálculos del índice de fijación F_{ST} , se puede reafirmar que *C. fluctifraga* es una especie diferente ya que al incluirla en el cálculo del índice aumentó el valor de la estructuración de 0.112 a 0.136, aunque en ambos casos se trató de una estructuración moderada.

Dentro de las cuatro poblaciones de *C. cortezi*, incluyendo a las poblaciones inicialmente designadas *Chione* sp. se encontró un F_{ST} que indicó una estructuración moderada, aún cuando, debido a la distancia geográfica, se esperaba no encontrar estructuración. Entre las poblaciones CoBA y CoSF se encontró una estructuración grande. Estos hechos pueden correlacionarse con la ubicación geográfica de cada uno de los habitat y sus condiciones particulares que pueden limitar o favorecer el flujo genético.

García y Marinone (1997) afirmaron que en el norte del Golfo de California existen patrones de circulación característicos como son una circulación

residual importante que se presenta hacia la Cuenca de Wagner, una corriente intensa que va de Puerto Peñasco a San Felipe, una circulación anticiclónica en Bahía Adair y en Bahía San Jorge, y una ciclónica cerca de la costa de Baja California. De esta manera, tales movimientos oceánicos podrían favorecer un intercambio de larvas, traducido como flujo genético entre las localidades en las que se recolectó *C. cortezi*, sin embargo entre ellas se encontró una estructuración genética moderada lo cual refleja que dicho transporte de larvas (flujo genético) no está ocurriendo.

C. gnidia.

En ambas poblaciones de esta especie se encontraron diferencias tanto en la frecuencia del alelo más común como en las frecuencias del resto de los alelos. No obstante, en la prueba de diferenciación alélica las diferencias fueron significativas solo en los loci *Hk*, *Me* y *Mpi*, mientras que en la prueba de diferenciación genotípica fueron significativas solo *Hk*, *Me*, *Mdh* y *Mpi*.

Los valores de heterocigosidad en esta poblaciones, y de la misma manera que en *C. californiensis*, *C. subimbricata*, *C. cortezi* y *C. fluctifraga* mostraron valores elevados en comparación con otros moluscos marinos referidos anteriormente. En las dos poblaciones de *C. gnidia* se obtuvieron cinco casos de desviación significativa del modelo de HW, por lo cual se plantea que se encuentran en desequilibrio.

El índice de endogamia F_{IS} por población mostró un exceso de heterocigotos, el cual fue significativo solo en la población GniLA. Esta tendencia es poco común encontrarla en bivalvos marinos, sin embargo se descarta que haya ocurrido una sobreestimación de los heterocigotos en las lecturas de los zimogramas.

Las diferencias alélicas y genotípicas se reflejaron en el cálculo del índice de fijación F_{ST} , cuyos valores indicaron una estructuración genética grande, la cual es posible que se deba a:

1) La distancia geográfica entre ambas poblaciones es de 613 Km lo cual hace poco probable la supervivencia de larvas desde una localidad hacia la otra, aunque hasta el momento no se cuenta con información al respecto.

2) Existe movimiento de masas de agua entre el Océano Pacífico y el Golfo de California en la región de la Boca del Golfo, de acuerdo a lo señalado por Castro *et al* (2000) lo cual puede ser un factor que favorezca el flujo de larvas entre ambas localidades. Sin embargo, en la Laguna Agiabampo como se mencionó anteriormente cuando se analizó a la especie *C. californiensis*, el flujo de agua está limitado (Ayala-Castañares *et al.*, 1990) tanto por barreras litorales, antiguos cordones de playa y dunas como por la escasa profundidad de la Laguna. De esta manera, aún cuando las larvas pudieran ser eventualmente transportadas y llegar hasta esta localidad, difícilmente alcanzarían el interior de la Laguna para asentarse.

Estas hipótesis deberán verificarse al integrar en los análisis genéticos a otras poblaciones de esta especie, preferentemente en localidades intermedias

entre las dos que aquí se analizaron. De esta manera, al comparar los valores de distancia genética y del F_{ST} calculados con un mayor número de poblaciones, se logrará tener una mejor apreciación de la genética de poblaciones para esta especie.

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.

Los análisis morfométricos son una herramienta útil en el estudio de varios grupos taxonómicos; particularmente en moluscos se pueden aplicar a una gran variedad de especies como es el caso de *Littorina sitkana* (Boulding *et al.*, 1993) *Mytilus californiensis* (Cáceres-Martínez *et al.*, 2003) y *Saccostrea* (Day *et al.*, 2000), así como en crustáceos (Creasey *et al.*, 2000) y otros grupos taxonómicos superiores como peces (Elliot *et al.*, 1995; Waters *et al.*, 2001) y mamíferos (Taylor *et al.*, 2004; Guidetti *et al.*, 2005). De esta manera este tipo de análisis han logrado contribuir tanto al conocimiento básico de su biología como al reforzamiento de su sistemática.

El análisis morfométrico de *Chione* presentado aquí es el primero realizado para diferentes especies de este género en el Pacífico mexicano. Los únicos reportes sobre *Chione* en relación a su morfometría son los de Stanley y Yang (1987), Roopnarine (1995, 1996) y Roopnarine y Beussink (1999) quienes trabajaron con especies actuales y fósiles. De igual forma que en el análisis

genético, estos únicos antecedentes serán utilizados como referencia para la comparación de los resultados obtenidos en esta investigación.

Promedios de las variables morfométricas.

Las poblaciones de *C. californiensis* en el presente estudio tuvieron promedios inferiores a los publicados en la literatura (largo= 68 mm Keen, 1971; largo= 74 mm Skoglund, 1991), de la misma manera la talla promedio de *C. subimbricata* fue inferior a la referida por Keen (45 mm). García-Domínguez *et al.* (1993) publicaron que los organismos adultos de la especie *C. californiensis* tienen una talla mayor de 40 mm, de esta manera probablemente los ejemplares analizados correspondieron a ejemplares juveniles de la especie.

El largo promedio para la especie *C. cortezi* se mantuvo cercano al reportado por Keen (1971) (largo= 62 mm) no obstante fue inferior al reportado por Skoglund (1991) (largo= 89 mm). Por su parte *C. fluctifraga* mostró un largo promedio inferior al reportado por Keen (1971) (largo= 51 mm), por Skoglund (1991) y por Coan *et al* (2000) (largo= 86 mm).

Para la especie *C. gnidia* también se obtuvo el largo promedio inferior al reportado por Keen (1971) (largo= 101 mm) y Skoglund (1991) (largo= 111 mm).

Para la mayoría de las especies es probable que se hayan muestreado ejemplares juveniles, ya que de manera generalizada, las tallas obtenidas

fueron inferiores a las citadas en la literatura. Esto hubiera podido corroborarse con análisis gonádicos, como el realizado por García-Domínguez *et al.* (1993), sin embargo, este tipo de análisis no se consideraron como parte de los objetivos en esta investigación.

Análisis de Funciones Discriminantes.

Los análisis estadísticos multivariados utilizando caracteres morfométricos son una herramienta útil tanto para evidenciar las diferencias morfológicas intraespecíficas cuando existen diferentes grupos fenotípicos de acuerdo al área geográfica (Elliot *et al.*, 1995; Boulding *et al.*, 1993; Cáceres-Martínez *et al.*, 2003) así como para hacer evidentes las diferencias interespecíficas cuando debido a la amplia variedad de habitats que ocupan la morfología de dos especies diferentes pudiera parecer similar (Day *et al.*, 2000).

AFD para once poblaciones de *Chione*.

El análisis de las once poblaciones de la especie *Chione* identificó a 5 variables que participan de manera más importante en la diferenciación entre especies.

Los porcentajes de clasificación para todas las especies fueron superiores al 80 % y el porcentaje total fue de 94 %, estos resultados indicaron que todas

las poblaciones fueron correctamente clasificadas dentro de su especie correspondiente.

El análisis también indicó que existen agrupaciones de las poblaciones directamente relacionadas al subgénero que pertenecen (Keen, 1971), así *C. californiensis* guarda una distancia menor con *C. subimbricata*, de la misma manera que *C. cortezi* con *C. fluctifraga*.

De manera independiente la especie *C. gnidia* perteneciente al subgénero *Chionopsis* puede tener una mayor relación con el subgénero *Chione* spp. ya que la distancia morfométrica entre ambos subgéneros fue menor en relación al subgénero *Chionista*. Con estos resultados se reafirma la inclusión de *C. gnidia* dentro del género *Chione* y el subgénero *Chionopsis* como lo reportó Keen (1971) y no su reclasificación a *Chionopsis gnidia* como lo propuso Roopnarine (1996).

***C. californiensis* y *C. subimbricata*.**

Para las especies estudiadas el AFD realizado evidenció las diferencias tanto a nivel intraespecífico (*C. californiensis*) como a nivel interespecífico (*C. californiensis* y *C. subimbricata*). Los porcentajes de clasificación correcta en los AFD intra e interespecíficos fueron de alrededor del 92 %, similar a lo obtenido por Boulding *et al.* (1993) para *Littorina* (89-94 %) y por Day *et al.*, (2000) para *Saccostrea* (85-100 %). El porcentaje obtenido en este estudio para *C. californiensis* fue un porcentaje elevado, lo cual puede interpretarse

como la existencia de características particulares que definen claramente a estas tres poblaciones de la misma especie. Por el contrario, el escaso número de organismos clasificados en una población diferente a la de su origen, puede interpretarse como la existencia de ciertos ejemplares con características morfológicas semejantes entre poblaciones. Por otra parte, el porcentaje de clasificación interespecífico (92 %) indicó una clasificación precisa de los organismos a nivel de especie y distinguió claramente entre las dos especies *C. californiensis* y *C. subimbricata*.

En este estudio se detectaron 6 variables que diferenciaron a las poblaciones de *C. californiensis*, las cuales pueden ser utilizadas para futuras inferencias acerca de la procedencia de algunas muestras. No obstante, debe considerarse que la morfología de la concha de ciertos moluscos esta determinada en gran medida por la influencia de varios factores ambientales (Day *et al.*, 2000), como lo reportó Seed (1968) para *Mytilus edulis* en donde las diferencias en edad, hábitat, tasa de crecimiento y densidad influyen en la forma de la concha, así como la presencia de predadores que afectaron la morfología de esta misma especie de mejillón (Reimer y Tedengren, 1996) o bien el nivel de mareas que influyó sobre la morfología y fisiología de *M. galloprovincialis* (Dalla Via *et al.*, 1987) (citados todos en Cáceres *et al.*, 2003).

Los resultados de las distancias cuadradas de Mahalanobis entre las poblaciones de *C. californiensis*, revelaron que son morfológicamente similares, obteniéndose mayor similitud morfométrica entre las dos poblaciones del Golfo

de California (1 y 2) a pesar de la distancia geográfica que las separa. Este resultado contrasta con el de la distancia genética de Nei, que indicó mayor similitud genética entre las poblaciones 2 y 3. Esto hace suponer que *C. californiensis* mantiene una identidad morfológica bien definida como especie a lo largo de su distribución geográfica, al menos en las tres poblaciones analizadas, sin embargo es posible encontrar diferencias sutiles entre poblaciones dadas por sus características particulares del habitat (tipo de sustrato, patrón de circulación oceánica, alteración o impacto ambiental, etc.).

De esta manera es factible señalar que las condiciones particulares de cada ambiente pueden estar influyendo sobre la morfometría de las poblaciones de diferente localidad, por esta razón se hará a continuación una breve descripción de cada población basándose en trabajos publicados por diferentes autores.

Aunque *C. californiensis* es una especie con amplia distribución que habita desde el intermareal hasta profundidades de 69 metros (Keen, 1971), sus bancos se encuentran localizados principalmente en las zonas intermareales (García-Domínguez *et al.*, 1991; Castro-Ortíz y García-Domínguez, 1993). El tipo de sustrato sobre el que habita esta especie es variable, desde estuarios con fondo limo arcilloso y arcillas limosas como en la población 1 (Ayala-Castañares *et al.*, 1990) hasta complejos lagunares altamente productivos como en la población 2 con sustrato predominantemente arenoso-rocoso (Saad y Palacios, 2004), o bien

ecosistemas altamente productivos (Lechuga, 1977; citado en Cervantes-Duarte y Guerrero-Godínez, 1988) con fondo de arena (90%) y limo (10%) como en la población 3, en donde la presencia de arcilla limita en forma determinante su distribución (García-Domínguez *et al.*, 1994). De esta manera, el tipo sustrato no parece estar influyendo de manera determinante sobre la morfometría de las poblaciones de *C. californiensis* ya que las poblaciones con mayor semejanza morfométrica (1 y 3) habitan en distintos tipos de sustrato.

Para *C. subimbricata*, una especie intermareal que también puede habitar en mar abierto hasta profundidades de 9 metros, y al igual que *C. californiensis* tiene una amplia distribución (Keen, 1971; Abbot, 1974), el único tipo de sustrato reportado es arena fina-limo y arena gruesa-roca en el Estado de Guerrero (Baqueiro y Stuardo, 1977), sin embargo sería conveniente analizar si para esta especie influyen sobre su morfometría algunos de los factores anteriormente mencionados.

Aunque no se cuenta con más información que la aquí referida sobre las condiciones particulares de cada población, se plantea que son precisamente estas condiciones las que hacen que la morfología de cada población de *C. californiensis* mantenga ligeras variaciones a lo largo de su distribución, al menos en la escala geográfica abarcada en este estudio.

De igual manera que en el análisis genético, los resultados del AFD obtenido entre *C. californiensis* y *C. subimbricata* se consideran un punto de

referencia para la futura identificación de especímenes en estadios tempranos, en donde eventualmente pudieran ser identificados con dificultad.

Los resultados obtenidos en este análisis morfométrico son confiables y de la misma manera que los análisis genéticos, sustentan la clasificación taxonómica propuesta por Keen (1971).

C. cortezi, C. fluctifraga y Chione sp.

El análisis morfométrico realizado evidenció que las especies de este subgénero *Chionista* presentan mayor similitud morfométrica en comparación a la observada entre las especies del subgénero *Chione* s.s. (*C. californiensis* y *C. subimbricata*), no obstante, con el AFD fue posible encontrar diferencias morfométricas sutiles entre las 5 poblaciones analizadas en esta sección. Estas diferencias fueron más evidentes en 6 de las 12 variables incluidas en el análisis, sin embargo, el resto de las variables fueron también útiles para contar con un análisis estadístico más robusto.

En estas poblaciones, los porcentajes de clasificación correcta del AFD fueron inferiores a los obtenidos en este estudio para las especies *C. californiensis* y *C. subimbricata*, de la misma manera que los porcentajes reportados para otras especies de moluscos como se mencionó anteriormente, sin embargo aun así se considera que los porcentajes de clasificación para estas poblaciones fueron adecuados.

Para estas poblaciones se obtuvieron organismos clasificados en una población diferente a la de su origen, pero a diferencia de las poblaciones de *C. californiensis*, en estas poblaciones esto puede interpretarse como un proceso de transición (especiación) entre *C. cortezi* y *C. fluctifraga* ya que, como se mencionó anteriormente, existe una elevada similitud fenotípica entre ambas especies, misma que pudiera ser producto de dicho proceso de especiación.

Como ya se ha mencionado anteriormente, en la presente investigación se encontró diferenciación genética entre las especies *C. cortezi* y *C. fluctifraga*, incluso en las poblaciones identificadas como *Chione* sp. se encontró mayor afinidad genética con la especie *C. cortezi*. En el análisis morfométrico por el contrario, las poblaciones de *Chione* sp. mostraron mayor similitud con la especie *C. fluctifraga*. Este hecho que podría estar indicando que la diferenciación genética ocurrió previamente a la diferenciación morfológica, misma que está aún en proceso.

No obstante a la similitud morfométrica entre estas especies, los caracteres morfométricos analizados en esta investigación hicieron evidente la diferenciación tanto para las poblaciones como para las especies.

***C. gnidia*.**

En esta especie, el AFD mostró seis variables que contribuyeron a la diferenciación de ambas poblaciones, aunque se refrenda como en las otras

poblaciones, que, el conjunto de todas las variables utilizadas aportan su respectiva importancia para la construcción del modelo.

El porcentaje de clasificación de 95 % fue el más elevado calculado para todas las poblaciones y especies analizadas en este estudio.

Es importante destacar que aún cuando los resultados obtenidos de la distancia genética de Nei indicaron una gran diferenciación, la distancia morfométrica mostró que las 2 poblaciones analizadas de esta especie mantienen una identidad morfométrica a pesar de su estructuración genética.

DISCUSION GENERAL

El centro de origen del género *Chione* se localizó en el Atlántico Americano Occidental durante el Oligoceno Temprano, una prueba de ello es el registro fósil que cuenta con una amplia diversidad de especies procedentes de dicha región. Posteriormente, debido a la libre comunicación entre los Océanos Atlántico y Pacífico y a los patrones de circulación oceánica, este género incursionó en el Pacífico Oriental durante el Plioceno Temprano y desde entonces se expandió de manera que en la actualidad esta zona geográfica cuenta con una diversidad de especies mayor que en el Océano en donde se originó (Atlántico Occidental).

La coincidencia de los límites de distribución de las especies con las isothermas de verano e invierno del Pacífico Oriental y los patrones de corrientes superficiales, corrobora que los representantes actuales de este género tienen

una distribución restringida latitudinalmente por estos factores, y su distribución se confina a las regiones tropicales, subtropicales y templado calidas entre los 34 ° N y los 5 ° S en el Pacífico Oriental.

Con los resultados de esta investigación se detectó un patrón en cuanto a la amplitud geográfica y el tiempo de aparición de los subgéneros, siendo el subgénero *Chione s. s.* (*C. californiensis* y *C. subimbricata*) el que tiene una distribución actual más amplia y el más antiguo geológicamente (5-2 Ma) seguidas del subgénero *Chionopsis* (*C. gnidia*) (2 Ma) y finalmente el subgénero *Chionista* (*C. fluctifraga* y *C. cortezii*) (1.7 Ma).

A partir de los resultados obtenidos en los análisis alozímicos y morfométricos se evidenció la separación de cada una de las especies, incluso de las especies que pertenecen a un mismo subgénero de acuerdo al criterio de Keen (1971). Debido a estos resultados se descarta la posibilidad de que *Chione gnidia* se reclasifique en *Chionopsis gnidia* como lo propuso Roopnarine (1996).

Las poblaciones de la especie *C. californiensis* presentaron poca estructuración genética, probablemente debido al área geográfica considerada, sin embargo, este resultado no deberá extrapolarse para otras poblaciones de esta misma especie. Los resultados de las distancias genéticas y morfométricas mostraron algunas diferencias en las agrupaciones, de manera que estas se deben probablemente a las características particulares de cada localidad que influyen de manera diferencial en las poblaciones.

La estructuración poblacional moderada y grande encontrada en las especies *C. cortezi* y *C. gnidia* respectivamente, puede deberse a causas distintas. En la primera especie, aunque las poblaciones están geográficamente cercanas, las condiciones particulares del habitat son muy diferentes aunado al hecho de que, debido a su reciente surgimiento, quizá las poblaciones no hayan logrado establecer estrategias que permitan un flujo genético eficiente. En la segunda especie la estructuración es probable que se deba a que cada población se desarrolla de manera independiente, es decir, que las dos localidades están aisladas debido a que existen barreras geográficas (barreras litorales, cordones de playa y dunas) además de la distancia, que impiden el flujo génico.

Un hecho que es importante destacar es que las poblaciones *Chione sp.* estuvieron genéticamente más cercanas a *C. cortezi* pero, morfométricamente fueron más similares a la especie *C. fluctifraga*. Por estos resultados es probable que este sea el caso de un proceso de especiación en el que la diferenciación genética es incuestionable mientras que la diferenciación morfológica (morfométrica) aún no es tan evidente.

El análisis morfométrico reveló que existen variables que aportan mayor información para la diferenciación de los taxa; sin embargo, la inclusión del resto de las variables puede ayudar a tener un modelo más completo y confiable. Las variables que discriminan entre especies son la distancia entre el umbo y el diente cardinal posterior (AD), la distancia entre el umbo y el diente cardinal anterior (AC), la distancia entre el diente cardinal posterior y la unión

dorsal de la cicatriz del músculo posterior con la cavidad palial (DG) y finalmente la distancia entre el diente cardinal posterior y el anterior (CD). Estas variables tienen importancia en la definición de la forma de la charnela (Figura 1) que es diferente para cada una de las especies de *Chione* como se ha demostrado en esta investigación.

En el caso específico de las especies *C. cortezi* y *C. fluctifraga* el análisis morfométrico mostró ser menos preciso, ya que el porcentaje de clasificación total fue el menor encontrado para todas las especies de *Chione* analizadas (80%). Este hecho podría ser producto de que, ciertos análisis estadísticos son menos sensibles a detectar variación morfométrica en determinados grupos taxonómicos que son fenotípicamente muy similares. El caso contrario se observó para especies con diferenciación fenotípica evidente, como *C. californiensis* y *C. subimbricata* en donde el porcentaje de clasificación fue de 92%. No obstante, estos resultados son de gran valor taxonómico ya que para el género *Chione* se consiguió una diferenciación morfométrica intra e interespecífica además de que se establecieron valores de distancias morfométricas para algunas de sus poblaciones.

Adicionalmente, el análisis morfométrico puede ser utilizado cuando no se dispone de otra metodología, ya sea cuando se analizan muestras en campo o bien cuando no se dispone de la infraestructura para un análisis alozímico.

Al considerar toda la información generada en este estudio de forma integral, se sustenta la clasificación de géneros y subgéneros propuesta por

Keen (1971), la cual a pesar de haberse basado solo en características de la concha, tiene una base filogenética sólida.

VI. CONCLUSIONES.

BIOGEOGRAFÍA.

El análisis biogeográfico indicó que las especies modernas de *Chione* están restringidas, en su distribución latitudinal principalmente por la temperatura y su límite de distribución no va más allá de las regiones tropicales y subtropicales entre los 34 ° N y los 5 ° S.

Las especies que presentan la mayor amplitud geográfica son *C. californiensis* y *C. subimbricata* seguidas de *C. subrugosa*, *C. undatella*, *C. gnidia*, *C. pulicaria*, *C. fluctifraga*, *C. tumens* y finalmente *C. cortezi*. De estas especies, las que tienen una amplia distribución tanto en el Pacífico como en el Golfo son *C. californiensis*, *C. gnidia*, *C. pulicaria*, *C. subimbricata*, *C. subrugosa* y *C. undatella*. Entre los factores que limitan la distribución al Norte se tienen: la isoterma de invierno de 15 ° C frente a las Costas de California, la isoterma de invierno de 20 ° C frente a Baja California Sur y la corriente de California que transporta aguas frías y de baja salinidad. Por el contrario, entre los factores que limitan la distribución al sur se encontró a la corriente de Perú o Humboldt, las isotermas de verano e invierno de 20 ° C y la Corriente de

Costa Rica que a su vez favorece la entrada de algunas especies hacia el Golfo de California.

El origen de este género es tropical y data del Oligoceno Temprano. Existen evidencias que confirman que la abundancia del género en el pasado era mayor en el Atlántico y posteriormente incursionó al Pacífico en donde lo superó en abundancia.

La distribución publicada para las especies de *Chione* debería actualizarse, ya que es probable que algunas especies hayan disminuido su densidad poblacional o bien hayan reducido su rango de distribución debido a la explotación comercial a escala regional.

GENÉTICA.

Los análisis alozímicos permitieron la identificación de determinados loci diagnóstico y alelos que hacen posible la diferenciación a nivel intra e interespecífico.

Las once poblaciones de *Chione* mostraron una variabilidad genética elevada en relación a otros moluscos bivalvos, lo cual puede ser indicador de un buen estado de preservación ecológica de esta especie.

Las poblaciones de este género se encuentran en desequilibrio de HW, ya que algunos loci mostraron deficiencia y otros exceso de heterocigotos significativos.

La distancia genética de Nei agrupó aquellas especies que

Los estadísticos F indicaron que algunas poblaciones de *Chione* se encuentran poco estructuradas (*C. californiensis*), mientras que en otras presentaron estructuración moderada (*C. cortezii*) o grande (*C. gnidia*).

Los resultados del análisis alozímico coincidieron con la clasificación taxonómica referida por Keen (1971).

MORFOMETRÍA.

Las medidas morfométricas consideradas y el tipo de análisis con el que se analizaron estas medidas, mostraron ser adecuados para hacer estudios comparativos de diferenciación morfométrica a nivel de poblaciones geográficas, especies y subgénero de *Chione* sp.

Las variables que discriminaron a nivel poblacional fueron AD, CD, AL, AN, MUS y GI para el caso de *C. californiensis*.

Las variables que discriminaron entre especies de un mismo subgénero fueron: AL, AD, CD, AN y AD para el caso de *Chione* s. s.; MUS, AL, AD, CD, GH y AJ en el caso de *Chionista* y GH, MUS, AD, HI, EF y AC en *Chionopsis*.

Las variables que discriminaron entre todas las especies fueron AC, CD, AD, MUS y DG.

No obstante a que existen proporciones morfométricas que tienen mayor aportación ó peso en la definición de cada uno de los modelos, la inclusión del resto de las variables hacen posible que se discrimine con mayor precisión entre poblaciones, especies y subgéneros de *Chione*.

Los porcentajes esperados de clasificación correcta a nivel poblacional fueron de 92 % (*C. californiensis*), a nivel subgénero fueron de 92 % (*C. californiensis* y *C. subimbricata*) y 80 % (*C. cortezi* y *C. fluctifraga*) y a nivel de especies de 94 %. Estas cifras indicaron que los organismos estudiados fueron clasificados correctamente siguiendo las claves taxonómicas referidas.

Los valores de distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) entre poblaciones de una misma especie oscilan entre 11 y 14 para *C. californiensis*, entre 1 y 22 para *C. cortezi* y fueron de 12 para *C. gnidia*.

Los valores de D^2 entre dos especies del mismo subgénero van desde 35 a 52 en *Chione* s. s. (*C. californiensis* y *C. subimbricata*) y desde 7 a 21 para *Chionista* (*C. cortezi* y *C. fluctifraga*). Los valores de D^2 entre especies van desde 10 (entre *C. cortezi* y *C. fluctifraga*) hasta 115 (entre *C. cortezi* y *C. subimbricata*).

Con estos resultados no se apoya la separación de *C. gnidia* en un género separado (*Chionopsis*) como lo propuso Roopnarine (1996), al menos a nivel morfométrico.

CONCLUSIONES GENERALES.

La presente investigación consideró por primera vez un análisis integral de la biogeografía, genética y morfometría de algunas especies de *Chione* que habitan en costas mexicanas, con las cuales se pudo llegar a las siguientes consideraciones generales:

Las cinco especies incluidas en esta investigación mantienen el estatus genérico y subgenérico propuesto por Keen (1971), mismo que se corroboró con los análisis genéticos y morfométricos realizados.

C. cortezi y *C. fluctifraga* son especies diferenciadas genética y morfométricamente, y que ocupan áreas geográficas similares. Probablemente su diferenciación haya ocurrido en un tiempo geológico reciente, lo cual faltaría por verificarse con los estudios pertinentes.

La presente investigación reveló que las especies *C. californiensis*, *C. cortezi* y *C. gnidia* presentaron estructuración genética en diferente magnitud, sin embargo, este hecho debería corroborarse con estudios que incluyan un mayor número de poblaciones de cada especie, lo cual no estuvo al alcance de esta investigación. Los análisis morfométricos como los que se practicaron en este estudio son de gran utilidad para resolver dificultades sistemáticas en determinados taxa, lo cual sería de gran valor explorar en investigaciones futuras.

VII. LITERATURA CITADA.

- Abbott, R. T. 1974. American seashells: The marine mollusca of the Atlantic and Pacific Coast of North America. VNR, Co. New York, 2nd.
- Allmon, W. D., Rosenberg, G., Portell, R. W. and Schindler, K. S. 1993. Diversity of Atlantic Coastal Plain mollusks since the Pliocene. *Science*. 260: 1626-1629.
- Alvarez-Borrego, S. 1983. Gulf of California, in Estuaries and enclosed seas. Ketchum, B. H. (ed). Chapter 17. Elsevier. New York.
- Ayala-Castañares, A., Gutiérrez, M. E. y Malpica, V. 1990. Morfosedimentología de la Laguna Agiabampo, Sonora-Sinaloa, México *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM*. 17(2): 257-270.
- Bandoni, S. M., Mulvey, M. and Loker, E. S. 1995. Phylogenetic analysis of eleven species of *Biomphalaria* Preston, 1910 (Gastropoda: Planorbidae) based on comparisons of allozymes. *Biol. J. Linn. Soc.* 54(1): 1-27.
- Baqueiro, E. 1989. Clam culture in Mexico: Past, present and future. In J. J. Manzi and M. Castagna (Eds.), Clam Mariculture in North America. Elsevier Sci. Pub., Amsterdam. 383-394 pp.
- Baqueiro, E. y Stuardo, J. 1977. Observaciones sobre la biología, ecología y explotación de *Megapitaria aurantica* (Sow., 1835) y *Dosinia ponderosa* (Gray, 1938) (Bivalvia: Veneridae) de la Bahía Zihuatanejo e Isla Ixtapa, Gro. México. *An. Centro Cienc. Mar y Limnol. UNAM*. 4:161-208.

- Baqueiro, E. y Massó, J. A. 1988. Variaciones poblacionales y reproducción de dos poblaciones de *Chione undatella* (Sowerby, 1835), bajo diferentes regímenes de pesca en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Cienc. Pesq.* 6: 51-67.
- Bernard, F., McKinnell, S. and Jamieson, G. 1991. Distribution and zoogeography of the Bivalvia of the eastern Pacific Ocean. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 112: 60.
- Bossart, J. L. and Prowell, D. P. 1998. Genetic estimates of population structure and gene flow: limitations, lessons and new directions. *TREE*. 13(5): 202-206.
- Boulding, E. G.; Bouckland-Nicks, J. and Van Alstyne, K. L. 1993. Morphological and allozyme variation in *Littorina sitkana* and related *Littorina* species from the northeastern Pacific. *The Veliger*. 36: 43-68.
- Briggs, J. C. 1974. The operation of zoogeographic barriers. *Syst. Zool.* 23: 248-256.
- Brown, L. D. 1991. Genetic variation and population structure in the blacklip abalone, *Haliotis rubra*. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 42: 77-90.
- Burton, R. 1983. Protein polymorphisms and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Marine Biology Letters*. 4: 193-206.
- Cáceres-Martínez, J.; Del Río-Portilla, M.; Curiel-Ramírez, S. and Méndez, I. 2003. Phenotypes of the California mussel, *Mytilus californianus*, Conrad, (1837). *J. Shellfish Res.* 22(1): 135-140.

- Camarena-Rosales, F. 1999. Relaciones filogeográficas entre especies y subespecies de *Fundulus* (Pises: Fundulidae) de la Península de Baja California, México. Tesis doctoral. UABC, FCM, IIO. 89.
- Castro-Ortíz, J. L., García-Domínguez, F. 1993. Growth of *Chione californiensis* (Broderip, 1835) (Veneridae) in the Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México. *Inv. Mar. CICIMAR*. 8(2): 45-52 p.
- Castro, R., Mascarenhas, A., Durazo, R. y Collins, C. 2000. Variación estacional de la temperatura y salinidad en la entrada del golfo de California, México. *Cienc. Mar.* 26(4): 561-583.
- Cervantes-Duarte, R. y Guerrero-Godínez, R. 1988. Variación espacio-temporal de nutrientes de la Ensenada de la Paz, B.C.S., México. *An. Inst. Cienc. Mar y Limnol.* UNAM. Vol 2: Art. 311.
- Chirat, R. 2000. The so-called "cosmopolitan palaeobiogeographic distribution" of Tertiary Nautilida of the genus *Aturia* Bronn 1838: the result of post-mortem transport by oceanic palaeocurrents. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 157: 59-77.
- Coan, E. V., Scott, P. V., Bernard, F. R. 2000. Bivalve Seashells of Western North America: Marine Bivalves Mollusks from Arctic Alaska to Baja California. Santa Barbara Museum of Natural History Monographs Number 2. Studies in Biodiversity Number 2.

- Correa, F. S., Collins, E., Ocegüera, A., Cordero, B. and Domínguez, D. 2004. Allozymic variation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* from San Quintín Bay, Baja California, México. *Cienc. Mar.* 30(1A): 99-107.
- Correa, S. F. y Carvacho, B. A. 1992. Efecto de la "Barrera de Islas" en la Distribución de los Braquiuros (Crustacea: Decapoda) en el Golfo de California. *Proceedings of the San Diego Society of Natural History*. 26: 1-4.
- Correa-Sandoval, F. 1995. Biogeografía de los cangrejos (Brachyura) del Golfo de California. *Temas de Oceanografía Biológica en México Vol II*. Gonzáles, F. y de la Rosa, V. (eds). UABC. 185-203.
- Correa-Sandoval, F. y Rodríguez-Cortés, D. 1998. Análisis de la distribución geográfica de los anomuros (Crustacea:Decapoda) del Golfo de California, México. *J. Biogeogr.* 25: 1133-1144.
- Creasey, S.; Rogers, A.; Tyler, P.; Gage, J. and Jollivet, D. 2000. Genetic and morphometric comparisons of squat lobster, *Munidopsis scobina* (Decapoda: Anomura: Galateidae) populations, with notes on the phylogeny of the genus *Munidopsis*. *Deep-Sea Research II*. 47: 87-118.
- Day, A. J., Hawkins, A. J. S. and Visootviseth, P. 2000. The use of allozymes and shell morphology to distinguish among sympatric species of the rock oyster *Saccostrea* in Thailand. *Aquaculture*. 187(1-2): 51-72.

- Del Río-Portilla, M. A. and González-Avilés, J. G. 2001. Population genetics of the yellow abalone *Haliotis corrugata*, in Cedros and San Benito Islands: a preliminary survey. *J. Shellfish Res.* 20(2): 765-770.
- Dalla Vía, G. J., Tappeiner, U. and Bitterlich, G. 1987. Shore-level related morphological and physiological variations in the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) (Mollusca Bivalvia) in the North Adriatic Sea. *Moit. Zool. Ital.* 21: 293-305.
- Elliot, N. G., Haskard, K. and Koslow, J. A. 1995. Morphometric analysis of the orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *Journal of Fish Biology.* 46: 202-220.
- Fujino, Y., Yamanaka, R. and Smith, P. J. 1983. Genetic variation in marine mollusks. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 49: 1809-1817.
- García-Domínguez, F., González-Acosta, B. y Rodríguez-Astudillo, S. 1991. Fauna simbiote de la almeja roñosa, *Chione californiensis* en la Ensenada de la Paz, Baja California Sur, México. *Inv. Mar, CICIMAR.* 6(2): 283-286.
- García-Domínguez, F., García-Melgar, G. y González-Ramírez, P. 1993. Ciclo reproductivo de la almeja roñosa, *Chione californiensis* (Broderip, 1835), en Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. *Cienc. Mar.* 19(1): 15-28 p.

- García-Domínguez, F., Arvizu-Martínez, J., Rodríguez-Astudillo, S. y Ramírez-Sevilla, R. 1994. Distribución y abundancia de *Chione californiensis* (Pelecypoda: Veneridae) en la Ensenada de la Paz, Baja California Sur, México. *Rev. Biol. Trop.* 42(3): 531-536.
- García-Silva, G. y Marinone, S. G. 1997. Modelado de corrientes residuales en el Golfo de California mediante la utilización de diferentes tamaños de malla. *Ciencias Marinas*. 23(4): 505-519.
- Gastil, R. G., Krumenacher, D. and Minch, J. 1979. The record of Cenozoic volcanism around the Gulf of California. *Geological Society of America Bulletin*. 90: 839-857.
- Goudet, J. 1999. FSTAT. A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.8). Updated from Goudet (1995).
- Guidetti, R.; Gandolfi, A.; Rossi, V. and Bertolani, R. 2005. Phylogenetic analysis of *Macrobiotidae* (Eutardigrada, Parachela): a combined morphological and molecular approach. *Zoologica Scripta*. 34 (may): 235-244.
- Harris, H. and Hopkinson, D. A. 1976. Hadbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North Holland Publishing Co. 259 p.
- Harte, M. E. 1992a. A new approach to the study of bivalve evolution. *American Malacological Bulletin*. 9 (2): 199-206.
- Harte, M. E. 1992b. An Eastern Pacific *Mercenaria* and notes on other *Chionine* genera (Bivalvia: Veneridae). *Veliger* . 35(2): 137-140 p.

- Hertlein, L. G. 1934. Pleistocene mollusks from the Tres Marías Islands, Cedros Island and San Ignacio Lagoon, México. *Bull. South. Calif. Acad. Sci.* 33(2): 59-73.
- Hertlein, L. G. 1957. Pliocene and Pleistocene fossils from the Southern portion of the Gulf of California. *Bull. South. Calif. Acad. Sci.* 56(2): 57-75.
- Jackson, J. B. C., Jung, P., Coates, A. G. and Collins, L. S. 1993. Diversity extinction of tropical American mollusks and emergence of the Isthmus of Panama. *Science*. 260: 1624-1626.
- Johnson, M. E. and Ledesma, V. J. 1999. Biological zonation on a rocky-shore boulder deposit: Upper Pleistocene Bahía San Antonio (Baja California Sur, México). *Palaos*. v14: 569-584.
- Keen, A. M. 1971. Sea shells of tropical West America; marine mollusks from Baja California to Perú. Stanford, Univ. Press. Stanford, Ca. 1064 pp 2nd ed.
- Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I. B. and Nei, M. 2001. Molecular Evolutionary Genetics Analysis MEGA. Ver. 2.1.
- Libbey, L. K. and Johnson, M. E. 1997. Upper Pleistocene rocky shores and intertidal biotas at Playa La Palmita (Baja California Sur, Mexico). *Journal of Coastal Research*. v.13, n.1:216-225.
- Licona-Chávez, A. 1999. Análisis genético de *Haliotis rufescens* en Abulones Cultivados S. A. de C. V. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 120 pp.

- Margalef, R. 1983. Limnología. Ed. Omega. Barcelona. 1008 pp.
- Martínez Córdoba, L. R. 1987. Abundancia y distribución por talla de almeja de *Chione fluctifraga* en distintos tipos de sedimentos en el Estero La Cruz, Sonora. *Ciencias Marinas*. 13(2): 25-33.
- Martinez-Cordova, L. R. 1988. Bioecology of the black clam *Chione fluctifraga* (Sowerby, 1853). *Revista de Biología Tropical*. 36(2): 213-220.
- Martinez-Cordova, L. R. 1996. Contribution to the knowledge of the malacological fauna of four costal lagoons in the state of Sonora, Mexico. *Ciencias Marinas*. 22(2): 191-203.
- May, B. 1992. Starch gel electrophoresis of allozymes IN: Hoelzel, A. R. Molecular Genetic Analysis of Populations. A practical approach. IRL Press. Oxford. 1-27.
- Mc Arthur, R. H. 1965. Patterns of species diversity. *Biological Review*. 40: 510-533.
- Mc Lelland, H. 1975. Elements of Physical Oceanography. Pergamon Press. London. 151 p.
- Mgaya, Y. D., Gosling, E. M., Mercer, J. P. and Donlon, J. 1995. Genetic variation at three polymorphic loci in wild and hatchery stocks of the abalone *Haliotis tuberculata* Linnaeus. *Aquaculture*. 136: 71-80.
- Miller, M. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA). A windows program for the analyses of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by the author.

- Murray, R., Granner, D., Mayes, P. y Rodwell, V. 1997. Bioquímica de Harper. Ed. El Manual Moderno. México, D. F.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583-590.
- Parker, P. Snow, A., Schug, M. Booton, G. and Fuerst, P. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*. 79(2): 361-382.
- Passamonti, M., Mantovani, B. and Scali, V. 1999. Allozymic analysis of some Mediterranean Veneridae (Mollusca: Bivalvia): Preliminary notes on taxonomy and systematics of the family. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 79(5) october: 899-906.
- Petuch, E. J. 1982. Geographical heterochrony: Contemporaneous coexistence of Neogene and Recent molluscan faunas in the Americas. *Palaeogeography, Palaeoclimatology and Palaeoecology*. 37: 277-312 p.
- Raymond, M. and Rousset, F. 2001. GENEPOP (version 3.3): Population genetics software for exact test and ecumenicism. Actualización de GENEPOP ver 1.2 descrito en *J. Heredity*. 86: 248-249
- Raymond, M., Väätäntö, R., Thom, F., Rousset, F., de Meedüs, T. and Renaud, F. 1997. Heterozygote deficiency in the mussel *Mytilus edulis* complex revisited. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 156: 225-337.

- Reimchen, T. E., Stinson, E. M. and Nelson, J. S. 1985. Multivariate differentiation of parapatric and allopatric populations of threespine stickleback in the Sangan River watershed, Queen Charlotte Islands. *Canadian Journal of Zoology*. 63: 2944-2951.
- Reimer, O. and Tedengren, M. 1996. Phenotypical improvement of morphological defenses in the mussel *Mytilus edulis* induced by exposure to the predator *Asterias rubens*. *Oikos*. 75: 383-390.
- Richardson, B. J., Baverstock, P. R. and Adams, M. 1986. Allozyme electrophoresis: a handbook for animal systematics and population studies. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Roopnarine, P. D. 1995. A re-evaluation of evolutionary stasis between the bivalve species *Chione erosa* and *Chione cancellata* (Bivalvia: Veneridae). *J. Paleont.* 69 (2) : 280-287 p.
- Roopnarine, P. D. 1996. Systematics, biogeography and extinction of chionine bivalves (Bivalvia : Veneridae) in tropical America: Early Oligocene-recent. *Malacologia*. 38 (1-2): 103-142.
- Roopnarine, P. D. 1997. Endemism and extinction of a new genus of chionine (Veneridae: Chioninae) bivalve from the Late Neogene of Venezuela *Journal of Paleontology*. 71(6): 1039-1046.
- Roopnarine, P. D. 1998. Translating trees into taxonomy: A reply to Harte. *Malacologia*. 39 (1-2): 221-224.

- Roopnarine, P. D. and Beussink, A. 1999. Extinction and naticid predation of the bivalve *Chione* von Muhlfeld in the Late Neogene of Florida. *Palaeontologia Electronica*. 2(1) 15 March: 1-24.
- Saad, N. G. y Palacios C. E. (Eds). 2004. Planificación para la Conservación de Sitios: Complejo Lagunar de Bahía Magdalena-Almejas, B.C.S., México. Pronatura A.C. (Noroeste). La Paz, B.C.S. México. 81 p.
- Sato, S. 1996. Genetic variability and population structure of *Phacosoma japonicum* (Bivalvia: Veneridae). *Venus. Jap. Jour. Malac.* 55(1). 51-63.
- Seed, R. 1968. Factors influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 48: 350-357.
- Skoglund, C. 1991. Additions to the Panamic Province Bivalve (Mollusca) Literature: 1971 to 1990. *Festivus*, XXII, Suppl. No. 2.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. 1995. Biometry. 3th edition. W. H. Freeman and Co. N. York. 887.
- Stanley, S. M. and Yang, X. 1987. Approximate evolutionary stasis for bivalve morphology over millions of years: a multivariate multil lineage study. *Paleobiology*. 13: 113-139.
- Stanley, S. M. 1984. Marine mass extinctions: a dominant role for temperatures IN: Nitecki, M. H. (ed). Extinctions. University of Chicago Press. Chicago. 69-117 pp.
- StatSoft, Inc. 2002. STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

- Swofford, D. L. and Selander, R. B. 1989. BIOSYS-1. A program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Heredity*. 72: 281-213 p.
- Taylor, P. J.; Denys, C. and Mukerjee, M. 2004. Phylogeny of the African murid tribe Otomyini (Rodentia), based on morphological and allozyme evidence. *Zoologica Scripta*. 33: 389-402.
- Tchernia, P. 1980. Descriptive Regional Oceanography. Pergamon, Press. United Kingdom. 253.
- Valentine, J. 1980. Estrategias genéticas de la adaptación, p. 80-97. En: Ayala, F. (ed) Evolución Molecular, Ed. Omega, Barcelona, España.
- Vermeij, G. J. 1978. Biogeography and adaptation: patterns of marine life. Harvard University Press.
- Vermeij, G. J. 1980. Biogeography and adaptation. Harvard Univ. Press. Harvard, EE.UU.
- Vermeij, G. J. 1993. The biological history of a seaway. *Science*. 260: 1603-1604.
- Vermeij, G. J. and Petuch, E. J. 1986. Differential extinction in tropical American molluscs: endemism, architecture and the Panama land bridge. *Malacologia*. 17: 29-41.

- Villarreal-Chávez, G., García-Domínguez, F., Correa, F. y Castro-Castro, F. 1999. Nota sobre la distribución geográfica de *Chione cortezi* (Carpenter, 1864) (Mollusca: Pelecypoda: Veneridae). *Ciencias Marinas*. 25(1): 153-159 p.
- Wang, J. P., Lin, H.-D., Huang, S., Pan, C. H., Chen, X. L. and Chiang, T. Y. 2004. Phylogeography of *Varicorhinus barbatulus* (Cyprinidae) in Taiwan based on nucleotide variation of mtDNA and allozymes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 31: 1143-1156.
- Waters, J. M.; Esa, Y. B. and Wallis, G. P. 2001. Genetic and morphological evidence for reproductive isolation between sympatric populations of Galaxias (Teleostei: Galaxidae) in South Island, New Zealand. *Biological Journal of the Linnean Society*. 73: 287-298.
- Weir, B. S. and Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 38: 1358-1370.
- Wilson, I. F. 1996. Application of ecological genetics techniques to test for selection by habitat on allozymes in *Cepaea nemoralis*. *Heredity*. 77: 324-335.
- Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Vol 4, Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Zouros, E. and Foltz, D. W. 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia*. 25(2): 583-591.

- Zúñiga, G., Guzmán del Prío, S., Cisneros, R. and Rodríguez, G. 2000. Population genetic analysis of the abalone *Haliotis fulgens* (Mollusca: Gastropoda) in Baja California, México. *J. Shellfish Res.* 19(2): 853-859.

Anexo 1. Amortiguadores y recetas para las soluciones de tinción de las enzimas utilizadas para *Chione* spp.

AMORTIGUADORES.

1).- Amortiguador TME pH 7.8 (Tris/Maleato/EDTA/MgCl₂)

a) Electrodo:

	Volumen final	1000 ml
12.04 g	Tris (Tris[hidroximetil] amino metano)	
11.60 g	Acido maleico	
3.72 g	EDTA (Acido etilen diamino tetra acético, sal disódica, dihidratada)	
4.06 g	MgCl ₂ 6H ₂ O	
5 g	NaOH	
900 ml	Agua destilada	
Usar NaOH al 40 % para el ajuste final a pH 7.8 y completar a 1000 ml.		

b) Gel:

Diluir el amortiguador del electrodo 1:10.
 Para 1 gel tomar 60 ml del amortiguador del electrodo
 Adicionar 600 ml de agua destilada.
 Ajustar el pH con NaOH al 40%
 (Harris and Hopkinson, 1976; May, 1992)

2). Amortiguador TEC pH 7.1 ó pH 6.5

a) Solución stock para Gel:

16.35 g	Tris
9.04 g	Acido Cítrico
6.90 g	EDTA-Na
1000 ml	Agua destilada

Para preparar el gel diluír 1:15 (25 ml de solución stock más 375 ml de agua destilada).

Ajustar el pH con LiOH 1 M.

b) Electrodo:

16.35 g	Tris
9.04 g	Acido Cítrico
0.46 g	EDTA-Na
1000 ml	Agua destilada

(Abreu, 1983; Correa y De la Rosa, 1996)

3).- Amortiguador TEB pH 9.0

Gel y Electrodo	
10.54 g	Tris
5.38 g	Acido bórico
0.37 g	EDTA-Na
1000 ml	Agua destilada

(Licona-Chávez, 1999)

4).-Amortiguador Malato pH 7.0 para ME

Volumen final	100 ml
2.8 g	Acido L-málico
100 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0

Ajustar el pH con NaOH al 40 %.

(Licona-Chávez, 1999)

5). Amortiguador fosfatos 0.1 M pH 6.5 para Esterasa-D

Volumen final	1000 ml
14.2 g	Na ₂ HPO ₄
12 g	NaH ₂ PO ₄
900 ml	Agua destilada

Ajustar el pH con Na₂HPO₄

(Licona-Chávez, 1999)

6). Amortiguador Tris Maleato pH 5.3 para LAP

Volumen final	1000 ml
11.6 g	Ácido Maleico
12.1 g	Tris
24 ml	NaOH 1 M
900 ml	Agua destilada

Ajustar el pH con NaOH 1 M y completar a 1000 ml. Almacenarse en refrigeración.

(Licona-Chávez, 1999)

7).- 0.5 M Tris/HCl pH 8.0. Amortiguador para tinción.

Volumen final	1000 ml
60.55 g	Tris
900 ml	Agua destilada

Ajustar el pH con HCl y completar a 1000 ml.

(Licona-Chávez, 1999)

8).- 0.1 M Tris/HCl Amortiguador para tinción.

Volumen final 1000 ml
 12.11 g Tris
 900 ml Agua destilada
 Ajustar el pH con HCl y completar a 1000 ml.

(Licona-Chávez, 1999)

9).- 0.2 M Tris/HCl pH 7.5. Amortiguador para tinción.

Volumen final 200 ml
 4.84 g Tris
 180 ml Agua destilada
 Ajustar con HCl a pH 7.5 y completar a 200 ml

(Licona-Chávez, 1999)

Reactivos y procedimiento para la tinción de una rebanada de gel.**1) Fosfatasas alcalinas ALP****E.C.3.1.3.1**

a). Mezclar:

90 mg Na- α -naftil fosfato ácido
 90 mg Sal azul rápida BB
 0.54 ml $MgCl_2$ 10 %
 90 ml Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.6

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Abreu-Grobois, 1983)

2) Fosfogluconato deshidrogenasa 6PGDH**E.C.1.1.1.44**

a). Mezclar:

90 mg Na-6-fosfogluconato
 30 mg NADP+
 21 mg MTT
 6 mg PMS
 30 mg $MgCl_2 \cdot 6H_2O$
 90 ml Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Abreu-Grobois, 1983)

3) Glucosa fosfato isomerasa GPI E.C.5.3.1.9

a). Mezclar:

60 mg	Fructosa-6-fosfato
12 mg	NADP ⁺
21 mg	MTT
6 mg	PMS
60 mg	MgCl ₂ ·6H ₂ O
60 U	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
90 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Abreu-Grobois, 1983)

4) Malato deshidrogenasa MDH E.C. 1.1.1.37

a). Mezclar:

450 mg	Acido L- málico
1800 mg	Tris
21 mg	MTT
30 mg	NAD ⁺
6 mg	PMS
90 ml	H ₂ O destilada

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Abreu-Grobois, 1983)

5) Manosa fosfato isomerasa MPI E.C.5.3.1.8

a). Mezclar:

18 mg	NADP ⁺
9 mg	NAD ⁺
36 mg	Acido pirúvico
45 mg	Manosa-6-fosfato
9 mg	MTT
6 mg	PMS
50 U	Glucosa fosfato isomerasa PGI
63 U	Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa G6PDH
90 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.2 M, pH 7.5

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Harris and Hopkinson, 1976; May, 1992)

6) Enzima Málica ME E.C.1.1.1.40

a). Mezclar:

20 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 20 mg NAD^+
 20 mg MTT
 100 ml Amortiguador Malato (Acido L-málico) pH 7.0
 12 mg PMS

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Harris and Hopkinson, 1976; May, 1992)

7) Isocitrato deshidrogenasa IDH E.C. 1.1.1.42

a). Mezclar:

9 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 18 mg NADP
 36 mg Acido isocítrico
 9 mg MTT
 6 mg PMS
 90 ml Amortiguador Tris/HCl 0.5 M pH 8.0

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Harris and Hopkinson, 1976; May, 1992)

8) Hexoquinasa HK E.C. 2.7.1.1

a). Mezclar:

360 mg Glucosa DL
 108 mg ATP
 18 mg NADP
 33 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 63 U Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa G6PDH
 18 mg MTT
 10 mg PMS
 90 ml Amortiguador Tris/HCl 0.1M pH 7.5

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Harris and Hopkinson, 1976; May, 1992)

9) Esterasa-D EST-D E.C.3.1.1.1

a) Incubar el gel con 70 ml de amortiguador fosfatos 0.1 M pH 6.5 por 15 minutos a temperatura ambiente.

b) Decantar el amortiguador fosfatos e incubar a 30 ° C en una solución compuesta de 45 mg de 4-Me umbeliferil acetato y 90 ml de amortiguador fosfatos 0.1 M pH 6.5 durante 15 a 30 min.

c) Ver bajo luz UV, las bandas aparecen fluorescentes en un fondo violeta oscuro.

(Abreu-Grobois, 1983)

10) Esterasas EST E.C.3.1.1.1

a). Mezclar:

100 mg	Sal azul rápida BB
3 ml	Solución sustrato para Esterasas*
10 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.5 M pH 7.1
87 ml	H ₂ O destilada

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

*** Solución Sustrato para Esterasas EST (3.1.1.-).**

Disolver en 5 ml de acetona y 5 ml de agua destilada:

100 mg	α Naftil acetato
100 mg	β Naftil acetato

Almacenar esta solución en refrigeración

(Abreu-Grobois, 1983)

11) Fosfoglucomutasa PGM E.C.2.7.5.1

a). Mezclar:

150 mg	Glucosa-1-fosfato
12 mg	NADP+
21 mg	MTT
6 mg	PMS
210 mg	MgCl ₂ ·6H ₂ O
60 U	Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa G6PDH
90 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.0

b). Colocar sobre el gel e incubar a 35° C.

(Abreu-Grobois, 1983)

12) Leucinaminopeptidasa LAP E.C.3.4.1.1

a) Incubar el gel en 90 ml de ácido bórico 0.5 M por 20 minutos a temperatura ambiente.

b) Mezclar:

60 mg	Sal rápida negra K
45 mg	L-leucil β naphtilamida
30 mg	MgCl ₂
90 ml	Amortiguador Tris Maleato pH 5.3 pH 5.3

c) Colocar sobre el gel e incubar a 35° C

(Abreu-Grobois, 1983)

13) Superóxido dismutasa SOD E.C.1.15.1.1

a). Mezclar:

25 mg	NAD ⁺
20 mg	NBT
5 mg	PMS
50 ml	Amortiguador Tris/HCl 0.1 M pH 8.4
50 ml	H ₂ O destilada

b). Vertir una capa delgada del sustrato y dejar bajo luz ultravioleta aproximadamente 15 minutos. Posteriormente vertir el resto del sustrato e incubar.

(de la Rosa-Vélez, 1986)