

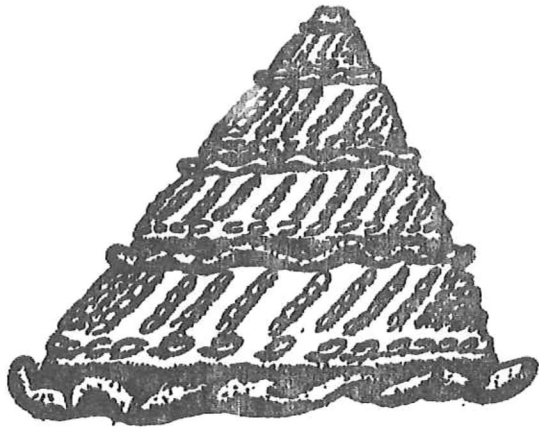


**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
BAJA CALIFORNIA**

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



**CARACTERIZACION DEL ACERVO GENETICO MEDIANTE ELECTROFORESIS
EN GEL DE ALMIDON DE LA POBLACION LOCAL DEL CARACOL *Astraea undosa*
DE LA LAGUNA SAN IGNACIO B.C.S. MEXICO**



**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
OCEANOLOGO
PRESENTA
LUIS CARLOS CARRILLO BARCO**

ENSENADA, B.C. JUNIO 1990

CARACTERIZACION DEL ACERVO GENETICO MEDIANTE
ELECTROFORESIS EN GEL DE ALMIDON DE LA POBLACION
LOCAL DEL CARACOL *Astraea undosa* DE LA LAGUNA
SAN IGNACIO B.C.S., MEXICO.

T E S I S

QUE PRESENTA:

LUIS CARLOS CARRILLO BARCO

APROBADA



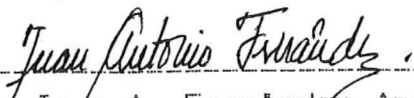
Dr. Jorge De La Rosa Vélez
Presidente



OC. Roberto Escobar Fernández
Sinodal Propietario



OC. Eliseo Almanza Heredia
Sinodal Propietario



OC. Juan A. Fernández Apango
Sinodal Suplente



M.C. Guillermo Torres Moya
Sinodal Suplente

ESTE TRABAJO FUE FINANCIADO EN PARTE POR LA DGICSA DE LA SEP MEDIANTE los convenios C87-01-0136 y C88-01-0077.

DURANTE EL DESARROLLO CONTO CON EL APOYO DE UNA BECA TESIS DE LA DGIP-U.A.B.C.

A MI PADRE

Guadalupe Carrillo Luevanos

A MI MADRE

Ascencio'n Barco

POR SU ENTERA CONFIANZA Y APOYO ATRAVES DE MI VIDA

A MIS TIAS

Amalia Aguilar e Ignacia Aguilar

POR SUS CUIDADOS Y AFECTOS DE SIEMPRE

A MI YAYA

Rosalva Aguilar

PORQUE HAS DADO TODO POR MI FAMILIA, POR ESTAR SIEMPRE
AL CUIDADO DE TODOS NOSOSTROS.

A MIS HERMANOS

**Ana Esther, Victor Manuel, Marco Antonio, Jose Angel y
Efren.**

PORQUE SIEMPRE HAN CONFIADO EN MI, POR SU RESPETO Y
COMPRENSION DE SIEMPRE.

A MI MADRINA

Guadalupe Aguilar

POR SIEMPRE CONTAR CON ELLA.

A Veronica Neri Preciado.

PORQUE AMBOS COMPARTIMOS GRANDES MOMENTOS Y SIEMPRE ME HAS
APOYADO, Y PORQUE SIEMPRE ME HAS MOTIVADO Y CONFIADO EN MI.
E

A LA FAMILIA GARCIA LEDEZMA Y EN ESPECIAL A DONA JOSEFINA
GARCIA VALLE POR SU GRAN AFECTO Y CONFIANZA Y POR SU GRAN
APOYO.

A LA FAMILIA ZARATE MENDIVIL, PORQUE SIN ELLOS QUIZA LAS
COSAS HUBIESEN SIDO MUY DIFICILES.

AGRADECIMIENTOS

A MI DIRECTOR

Jorge De La Rosa Velez.

Por su gran paciencia y enseñanzas, tanto en lo académico como en lo personal, y por que siempre te esforzaste para entenderme maestro, GRACIAS.

AL MAESTRO Y AMIGO

Guillermo Torres Moya.

Por las correcciones a este trabajo y su respeto personal y sobre todo por que siempre demostraste tu deseo de concretar bien esta tesis.

A MIS SINODALES

Roberto Escobar Fernandez, Juan A. Fernandez Apango por su dedicacion a corregir el presente trabajo.

AL MAESTRO

Eliseo Almanza Heredia por su ayuda a la correccion de este trabajo y por sus enseñanzas durante mi paso por las aulas de la Facultad.

AL Director del I.I.O Luis Galindo Bect por haber proporcionado el uso de las instalaciones, en el procesamiento de la muestra.

AL OPERADOR Y AMIGO

Guillermo A. Urbina Sanchez, por la ayuda a dar el formato a esta tesis y su amistad personal demostrada siempre.p

A mis companeros de trabajo de laboratorio, Araceli, Laura, Ernesto,Guillermo .

Y a todos mis amigos que de alguna forma me han apoyado siempre. Mario, Edward, Morita, Ramon, Rigo, Zamora.

R E S U M E N

La caracterización del acervo genético y la medición de los niveles de variabilidad, realizado para el demo del caracol Astraea undosa asentado en la laguna San Ignacio B.C.S., al utilizar electroforesis en gel de almidón para 9 sistemas enzimáticos reveló la presencia de 16 loci génicos. El polimorfismo poblacional fue de 56%. El valor de heterocigosis observada por locus fue de 0.18 ± 0.06 , y la esperada según el equilibrio teórico de Hardy-Weinberg, de 0.20 ± 0.05 . La heterocigosis por individuo fue de 0.15 ± 0.01 . Esta población se encontró en equilibrio genético. Asimismo se detectó entre los individuos de esta población una infestación por parte del bivalvo Lithophaga plumula, sin efectos en la estructura genética de la especie en esta población.

I N D I C E

	Pag.
I INTRODUCCION -----	1
II ANTECEDENTES -----	5
generales -----	5
particulares -----	6
III OBJETIVO -----	9
IV DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO -----	10
V MATERIALES Y METODOS -----	12
procesamiento -----	12
preparación del gel de almidón y electroforesis -----	13
tratamiento estadístico -----	16
VI RESULTADOS -----	21
VII DISCUSION -----	23
VIII CONCLUSIONES -----	37
IX LITERATURA CITADA -----	38

L I S T A D E F I G U R A S

	Pag.
Figura 1 .- Localización del área de estudio. -----	11

L I S T A D E T A B L A S

TABLA I.-	Sistemas enzimáticos analizados, sistemas amortiguadores empleados y tejidos utilizados para la obtención de los extractos en el estudio electroforético de <u>Astraea undosa</u> de San Ignacio, B.C.S. -----	14
TABLA II.-	Composición de los sistemas amortiguadores utilizados en el estudio electroforético de la población de <u>Astraea undosa</u> de la laguna San Ignacio, B.C.S.-----	15
TABLA III.-	Condiciones de electroforesis en gel de almidón empleados en el estudio. -----	17
TABLA IV.-	Frecuencias alélicas (f), heterocigosis esperada (He), heterocigosis observada (Ho) y el número total de individuos (N) para cada locus, en el estudio electroforético de la población de <u>Astraea undosa</u> de San Ignacio B.C.S. -----	22
TABLA V.-	Valores promedio de heterocigosis para cada una de las poblaciones del caracol <u>Astraea undosa</u> de la costa oeste de Baja California. -----	27
TABLA VI.-	Comparación entre alelos de loci polimórficos registrados para las poblaciones de <u>Astraea undosa</u> , de Bahía Tortugas B.C.S., y laguna San Ignacio B.C.S. -----	30

I INTRODUCCION .

En las costas bajacalifornianas existe una gran riqueza de productos marinos explotables como el abulón, el caracol, la almeja, la langosta y el ostión, entre otros. Sin embargo, los esfuerzos pesqueros se concentran hacia especies tradicionales, y con ello han provocado una sobreexplotación de dichas poblaciones (Espinoza, 1984; citado por Moreno, 1990).

Debido a la presión de pesca que se ha ejercido sobre algunas especies como el abulón y la langosta. Sus pesquerías han sufrido declinaciones paulatinas al grado que de no modificarse la tendencia, llegarán al colapso total (Guzman del Proo et al, 1980; citado por Angel-Meza, 1990). Es por esto que el sector pesquero a comenzado a desviar su atención hacia otros recursos con los que se pueden implementar nuevas pesquerías.

Tal es el caso del caracol *Astraea undosa*, que ya es tomado en cuenta, con una captura comercial por diversas Sociedades Cooperativas a lo largo de la península de Baja California. Previniendo que se presente la misma situación dada en otras pesquerías, es necesario la generación de

información básica a través de estudios fundamentales acerca de su ecología y su biología . Los estudios de genética bioquímica deben ser contemplados dentro de esta última.

El presente estudio pretende, a través de una técnica electroforética en gel de almidón, evaluar los niveles de variabilidad genética del gasterópodo *Astraea undosa*, en el demo asentado en la laguna San Ignacio B.C.S.

Por el hecho de ser este demo marginal con respecto de la distribución total de *Astraea undosa* hacia el sur de la península, se presupone una baja variabilidad genética. Este argumento está apoyado en la teoría de Sùle (1971) (citado por Gooch, 1975), la cual explica que los niveles de variabilidad genética de las especies presentes en el centro de su rango de distribución geográfica son mucho mayores que en la periferia, no solamente como un reflejo de la ocupación de muchos habitats, sino también porque el flujo génico aleatorio tiende a apilar más diversidad alélica ahí.

El proceso de la evolución biológica contempla cambios a nivel fisiológico, morfológico y etológico. Estos aspectos constituyen el fenotipo de un individuo, el cual puede cambiar continuamente a

lo largo de su vida, desde el momento de su concepción hasta su muerte . Estos cambios pueden variar con el tiempo en función del ambiente y no se transmitirán necesariamente a sus descendientes . Por otro lado, pueden ocurrir cambios en los materiales hereditarios (genotipo). Los cuales pasarán de un individuo a sus descendientes y por lo tanto serán acumulativos en el tiempo.

Los estudios de variabilidad genética en poblaciones naturales han aportado información valiosa acerca de los procesos evolutivos que intervienen en la adaptación de las especies a los ambientes que habitan (Valentine, 1980 citado por Rosa-Vélez, 1986).

Las poblaciones de especies que poseen distribución geográfica amplia pueden experimentar diferencias ambientales que se reflejan en su estructura genética. Al utilizar los principios de la genética bioquímica, mediante técnicas electroforéticas en gel y de tinción selectiva de enzimas, ha sido posible estimar, al menos en una primera aproximación, la proporción de genes que son polimórficos en una población y en que grado lo son .

Se tiene ahora conocimiento acerca de la frecuencia y distribución de alelos en las

poblaciones naturales de algunos moluscos marinos. Esos genes son necesariamente una muestra muy pequeña del total del genoma y deben ser escogidas al azar. Nada es conocido acerca de la localización de locus en las cromosomas, y en la mayoría de los casos, el efecto fisiológico de los diferentes alelos es completamente desconocido. De otra manera, eso solamente es una muestra al azar de genes sin conocimiento previo de su variación, lo cual provee una idea sin sesgo de la variación genética dentro y entre las poblaciones naturales de las especies (Newkirk, 1980).

El presente trabajo fue enfocado al gasterópodo marino *Astraea undosa*, el cual en la actualidad comienza a tomar una importancia económica para las costas de Baja California, y en las cuales aún no ha alcanzado el auge como una pesquería fuertemente explotada. El proyecto "Evaluación integral de recursos con potencial económico de la costa oeste de Baja California" al implementar estudios de genética bioquímica, pretende adicionar conocimientos básicos sobre el recurso, para poder establecer criterios adaptativos acerca de este recurso, e integrarlos a la información ecológica y pesquera generada en el mismo contexto.

II ANTECEDENTES .

generales

El caracol *Astraea undosa*, conocido comúnmente como " caracol panocha ", es un recurso que ha sido subutilizado ya que se ha empleado como carnada para la captura de langosta (Baqueiro-Cardenas y Guajardo-Bernal, 1984; citado por Becerril-Bobadilla, 1989).

Este gasterópodo mide hasta 110 mm tanto de diámetro como de altura. El 7.7% de los organismos con talla promedio de 23.25 mm ya muestran una madurez sexual según reportan Rosa-Vélez et al (1987), en un estudio anual para esta especie.

Este gasterópodo se localiza en el litoral, y habita desde la parte baja del intermareal, hasta la zona sublitoral rocosa en asociación con los bosques marinos del alga parda *Macrocystis pyrifera* (Mclean, 1962; North, 1971; Rosenthal et al, 1974; Aguilar-Rosas et al (en prensa).

Esta especie es considerada por Leighton (1966), como predominantemente macroherbívoro, con preferencia hacia *M. pyrifera*, según experimentos de laboratorio.

La ubicación taxonómica de *Astraea undosa* es;

Phyllum	Mollusca
Clase	Gasteropoda
Subclase	Prosobranquia
Orden	Arqueogastropoda
Super familia	Trochacea
Familia	Turbinidae
Subfamilia	Astraeinae
Genero	<i>Astraea</i>
Subgenero	<i>megastrea</i>
Especie	<u><i>undosa</i></u>

Según Mclean, (1970); Keen, (1978); Morris et al (1983).

particulares

Desde principios de los años 60, se obtuvieron estimaciones de la variación genética para las poblaciones naturales de muchos organismos con la utilización de electroforesis en gel. La técnica fue introducida en la biología de las poblaciones cuando Lewontin y Hubby (1966) y Harris (1966) (citados por Selander 1980) intentaron medir sistemáticamente la variación genética en poblaciones naturales, al seleccionar muestras de proteínas al azar para los

aloenzimas, que son variantes genéticamente controladas de las isoenzimas .

El primer reporte de la variabilidad genética de la especie en estudio lo realizó Suárez-Vásquez (1989), en el se probaron 6 sistemas amortiguadores para 14 sistemas enzimáticos mediante técnicas electrofêreticas, en una población asentada en la Bahía Todos Santos B.C. Obtuvo valores de polimorfismo poblacional de 0.40, de heterocigosis por individuo en un intervalo que varió entre 0.055 y 0.200, mientras que la heterocigosis por locus fluctuó entre 0.029 y 0.629, en 25 loci gênicos analizados. En un estudio similar Romero-Romero (1989), reporta, de 11 sistemas gênicos analizados para la población de *Astraea undosa* de Bahía Tortugas B.C.S., 5 polimórficos. Encontró una heterocigosis observada por individuo de $15.9 \% \pm 2.1$ y la esperada, según el equilibrio teórico de Hardy-Weinberg, de 20.8 ± 2.5 . El polimorfismo fue de 45.4% . Reporta también deficiencias de heterocigotos en los loci IDH, LAP₂ y EST₃.

Urbina-Sánchez (1990) reporta para la misma especie, pero en la población de el Rosario B.C., niveles de variabilidad de polimorfismo poblacional de un 33 % , además una heterocigosis

observada por locus de 0.168, mientras que la esperada fue de 0.155, y asegura que la población se encuentra en equilibrio genético. Este autor pone a prueba también la hipótesis de a mayor heterocigosis individual por grupo de edad mayor talla, sin obtener valores significativos de correlación.

III OBJETIVO .

Caracterizar la estructura genética de la población local de *Astraea undosa*, en la laguna San Ignacio B.C.S., como estudio básico donde apoyar criterios evolutivos, ecológicos y pesqueros.

IV DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO .

La laguna San Ignacio, se sitúa entre los 26° 43' y 26° 58' de latitud norte y los 113° 08' y 113° 16' de longitud oeste, en Baja California Sur (Figura 1).

Ofrece un clima de tipo semicálido muy seco, con temperatura media anual entre los 18° y 22° C y en el mes más frío por debajo de los 18° C; lluvias en verano y una oscilación térmica de 7° C a 14° C . (García, 1973 citado por Contreras, 1985).

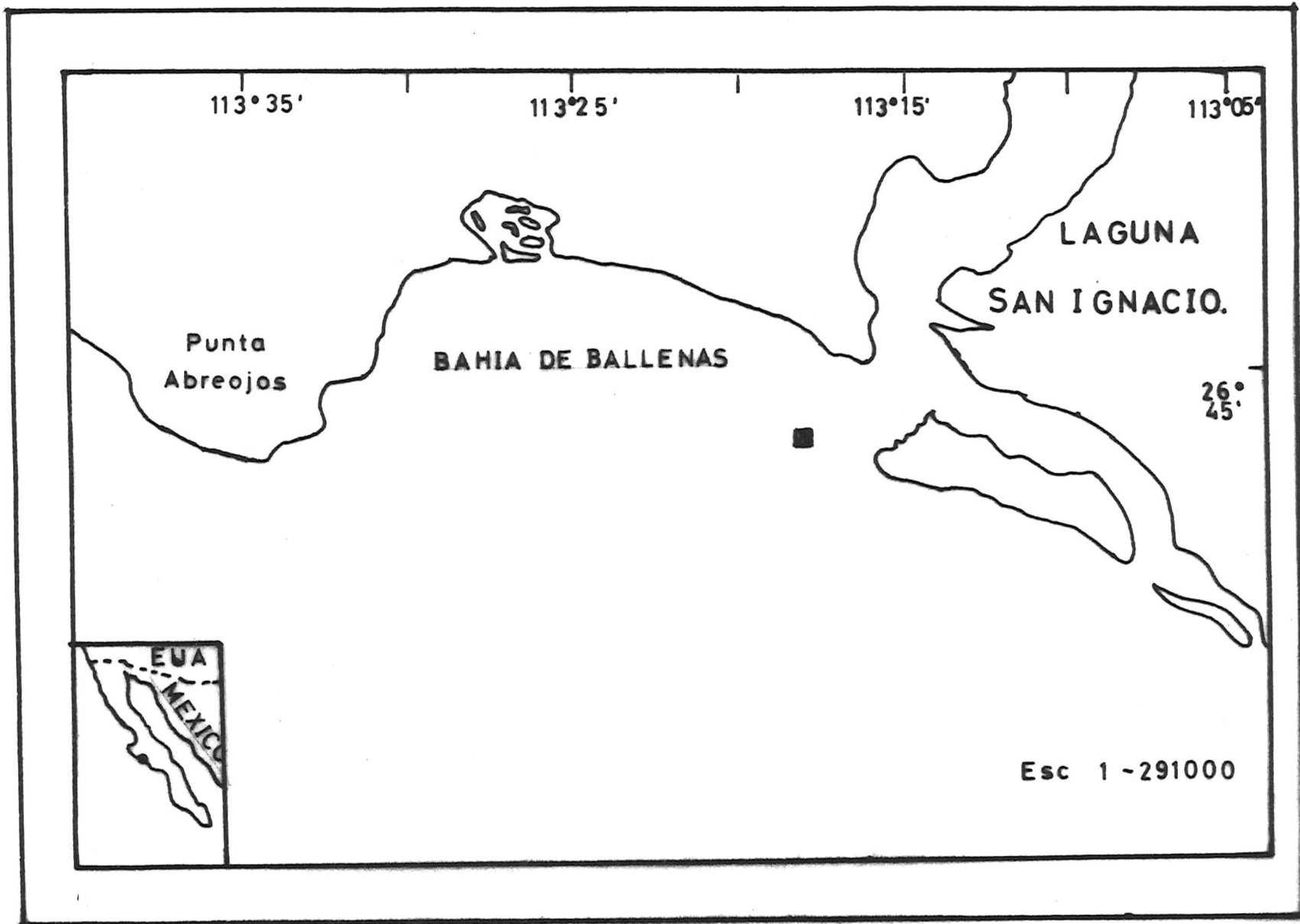


Fig 1 Localización del área de estudio.

▼ Zona de muestreo.

V MATERIALES Y METODOS .

La muestra de especímenes adultos de Astraea undosa (N=95) fue colectada en un bajo, con profundidad de 10 metros, localizado frente a la boca de la laguna San Ignacio B.C.S (Fig.1). La colecta se efectuó mediante la técnica de buceo autónomo, en el mes de noviembre de 1988. Inmediatamente, la muestra fue transportada al laboratorio del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (U.A.B.C., Ensenada, Baja California) donde se les acondicionó un tanque con flujo abierto de agua de mar y aireación, proporcionándoseles alimento, consistente en hojas de Macrocystis pyrifera, hasta su sacrificio para realizar los ensayos electroforéticos.

Procesamiento

El procesamiento consistió en el registro de medidas del diámetro mayor de la base y la altura . Posteriormente, se efectuó la fractura de la concha del caracol, y se pesó al organismo sin concha, se identificó el sexo, y se disecó el hepatopáncreas y la branquia (según lo recomendado por Suárez-Vásquez, 1989). Los tejidos obtenidos se homogeneizaron en un volumen de amortiguador de TRIS-

HCl 0.1 M, pH=7.0. Posteriormente, se centrifugaron por espacio de 10 minutos a 3000 rpm (en algunas ocasiones se centrifugó por 5 minutos adicionales, cuando no se obtuvo un sobrenadante limpio de partículas en suspensión). Se recuperó el sobrenadante y se guardó en tubos de ensayo, que se sellaron con papel parafilm y se almacenaron en congelación a -20° C.

Se analizaron 9 sistemas enzimáticos en 4 diferentes sistemas amortiguadores, de donde se obtuvieron 16 loci génicos (Tabla I). Los elementos constituyentes de cada uno de los sistemas amortiguadores, tanto para el gel como para el electrodo, se muestran en la tabla II.

Preparación del gel de almidón y electroforesis.

La preparación del gel de almidón fue descrita por Suárez-Vásquez (1989), con la variante de que en ese trabajo se utilizó una mezcla de dos almidones diferentes (Aldrich y Sigma), en una proporción 1:1 mientras que en el presente estudio se utilizó exclusivamente almidón Sigma.

La electroforesis se llevó a cabo en forma horizontal. La corriente eléctrica para el desplazamiento en el gel de almidón fue suministrada

TABLA I.- Sistemas enzimáticos analizados, sistemas amortiguadores empleados y tejidos utilizados para la obtención de los extractos en el estudio electroforético de *Astraea undosa* de San Ignacio, B.C.S.

SISTEMA ENZIMATICO	SISTEMA AMORTIGUADOR*	TEJIDO
Isocitrato deshidrogenasa (IDH).	A	Hepatopáncreas
Enzima málica (EM).	B	Hepatopáncreas
Lactato deshidrogenasa (LDH).	B	Hepatopáncreas
Aspartato aminotransferasa (AAT).	C	Branquia
Malato deshidrogenasa (MDH).	C	Branquia
Glutamato deshidrogenasa (GDH).	C	Branquia
Esterasas (EST).	C	Branquia
Leucil aminopeptidasa (LAP).	F	Hepatopáncreas y Branquia
Proteína total (Pt). (según nomenclatura de Suárez-Vásquez, 1989).	F	Hepatopáncreas y Branquia

* Las fórmulas de los sistemas amortiguadores, según Suárez-Vásquez (1989), en la tabla II.

TABLA II.- Composición de los sistemas amortiguadores utilizados en el estudio electroforético de la población de *Astraea undosa* de la Laguna San Ignacio, B.C.S.

SISTEMA AMORTIGUADOR	ELECTRODO	GEL
A	TRIS 0.2 M Acido cítrico 0.1 M pH= 5.8	Diluir 36.4 ml. de solución del electrodo en 1000 ml. de agua destilada. pH= 5.8
B	Acido bórico 0.3 M Hidróxido de sodio 0.05 M pH= 8.1	TRIS 0.076 M Acido cítrico 0.005 M pH= 8.65
C	TRIS 0.087 M Acido Bórico 0.0087 M Na ₂ EDTA 0.001 M pH= 9.0	Se utiliza el mismo del electrodo.
F	TRIS 0.50 M Acido bórico 0.645 M EDTA 0.0179 M pH= 8.0	TRIS 0.05 M Acido bórico 0.097 M EDTA 0.0018 M pH= 8.0

por una fuente de poder Buchler 3-1500; se aplicó una corriente constante de 50 mA para los sistemas A,B y F; mientras que para el sistema C se aplicaron 40 mA por cada celda electroforética. El voltaje varió entre 250 y 650 volts para los distintos sistemas enzimáticos. Las condiciones de corrimiento para las electroforesis se muestran en tabla III.

Después de terminada la electroforesis (cuando el colorante pista, azul de bromofenol al 0.002 %, alcanzó el extremo anódico), los geles fueron retirados de las charolas de acrílico y se procedió al rebanado y tñido de estos, según las técnicas de Suárez-Vásquez (1989), con una variante consistente en la sustitución del colorante para las deshidrogenas; se utilizó el MTT (azul de tiazolilo) en lugar del NBT (nitroazul de tetrazolio).

Tratamiento Estadístico

Se determinó la frecuencia de los alelos a partir de la frecuencia de los genotipos, según las siguientes relaciones:

$$p = D + 1/2 H$$

$$q = R + 1/2 H$$

TABLA III.- Condiciones de las electroforesis en gel de almidón emplados en el estudio.

SISTEMA	Voltaje(volts)	Corriente(mA)	Tiempo(horas)
A	250	50	3
B	295	50	3
C	650	40	4
F	250	50	4.5

donde:

D y R = son las frecuencias de los
homocigotos para cada alelo.
H = es la frecuencia de los
heterocigotos para un sistema
dialélico.

Se determinó el polimorfismo protéinico, al considerar polimórfico aquel locus que poseyera su alelo más común con una frecuencia ≤ 0.95 ($P_{0.95}$), y con la aplicación de la siguiente fórmula:

$$P_{0.95} = \frac{\text{No. de loci polimórficos.}}{\text{No. de loci totales}}$$

Se utilizó otra medida de la variabilidad genética, la heterocigosis, la cual se calculó de la siguiente forma:

1) Heterocigosis observada por locus (H_o):

Determinada a partir de la relación del número total de heterocigotos (T_H) con respecto del número de individuos (N), por locus (L):

$$H_o = \frac{T_H/N}{L}$$

2) Heterocigosis por individuo (H_i):

Se calculó al promediar el número de loci en los cuales cada individuo fue heterocigoto (L_H), entre el total de individuos (N).

$$H_i = \frac{L_H/L}{N}$$

Para ambos valores se determinó el valor del error estándar de la siguiente fórmula:

$$e.s. = \frac{S}{\sqrt{X}}$$

Donde para (H_o): S = desviación estándar.

$X=L$ = loci totales.

para (H_i): S = desviación estándar.

$X=N$ = número de individuos de la muestra total.

3) Heterocigosis esperada (según el equilibrio de Hardy-Weinberg):

Este valor se obtuvo apartir de la siguiente fórmula:

$$H_e = 1 - \sum P_i^2$$

Donde:

P_i = Es el valor de las frecuencias alélicas para cada locus.

Se realizó además una prueba estadística de bondad de ajuste de " χ^2 " , (Sokal y Rohlf, 1979) para calcular la significancia estadística, de las diferencias entre la heterocigosis esperada y la observada .

VI RESULTADOS .

La tabla IV presenta la variación génica de la muestra de loci analizados en la población local del caracol *Astraea undosa* de la Laguna San Ignacio B.C.S. Nueve (MDH, EST₂, EST₃, LAP₂, LAP₃, Pt₁, Pt₂, Pt₃ y AAT₂) de los 16 loci analizados son polimórficos, lo que resulta en un polimorfismo de 0.56 .

La prueba de bondad de ajuste de " J_i^2 " para determinar diferencias entre frecuencias alélicas y genotípicas, mostró diferencias significativas, con exceso de heterocigotos, en los loci MDH (" J_i^2 "= 5.58, $P < 0.05$) y AAT₂ (" J_i^2 "= 36.12, $P < 0.001$), y con deficiencias de heterocigotos, en el locus LAP₃ (" J_i^2 "= 24.75, $P < 0.001$).

La heterocigosis observada promedio (0.20), está en equilibrio con la esperada promedio (0.18), y este valor puede considerarse como alto dentro de lo reportado para los invertebrados (Selander, 1980).

TABLA IV.- Frecuencias alélicas (f), heterocigosis esperada (He), heterocigosis observada y el número total de individuos (N) para cada locus, en el estudio electroforético de la población de *Astraea undosa* de San Ignacio B.C.S.

LOCUS	ALELO	f.	N	Ho	He
IDH	100	1	95	0.0	0.0
LdH	100	1	57	0.0	0.0
EM	100	1	50	0.0	0.0
GDH	100	1	95	0.0	0.0
MDH	105	0.08	36	0.38	0.33
	100	0.81			
	98	0.09			
EST ₂	102	0.06	16	0.0	0.32
	100	0.81			
	94	0.12			
EST ₃	100	0.75	22	0.13	0.37
	98	0.25			
EST ₄	101	0.02	54	0.00	0.03
	100	0.98			
LAP ₁	100	1	95	0.00	0.00
LAP ₂	102	0.07	73	0.24	0.23
	100	0.86			
	99	0.04			
LAP ₃	102	0.05	36	0.13	0.34
	100	0.79			
	99	0.15			
Pt ₁	102	0.05	56	0.37	0.38
	100	0.75			
	97	0.18			
Pt ₂	101	0.15	36	0.58	0.53
	100	0.62			
	98	0.22			
Pt ₃	100	0.88	48	0.10	0.20
	97	0.11			
AAT ₁	100	1	95	0.00	0.00
AAT ₂	104	0.43	39	0.97	0.57
	100	0.48			
	96	0.07			

VII DISCUSION .

El locus LAF₃ fue detectado exclusivamente en esta población, a diferencia de lo reportado por Suárez-Vásquez (1989), Romero-Romero (1989), y Urbina-Sánchez (1990), para las poblaciones de Astraea undosa en Punta Banda, Bahía de Tortugas y el Rosario, respectivamente . La razón de esta deficiencia puede residir en el aspecto evolutivo, es decir, que exista un nuevo locus funcional aparecido por razones adaptativas; o en el aspecto fisiológico, o sea que aun al existir en el genoma característico de la especie, en esta población se halle activo y produce una expresión de utilidad en la etapa de desarrollo ensayada en este estudio; o bien que su aparición se deba exclusivamente a razones técnicas, en virtud de la utilización del almidón Sigma únicamente. No obstante se requiere de estudios adicionales para comprobar la validez de la causa verdadera.

El resultado del estudio de variabilidad genética realizado para el demo del caracol Astraea undosa asentado en la laguna San Ignacio B.C.S., no refleja una diferencia muy amplia de los resultados reportados para otros demos distribuidos al norte de

éste (Romero-Romero, 1989; Suárez-Vásquez, 1989; Urbina-Sánchez, 1990); más bien se infiere una estrecha relación interpoblacional para esta especie a lo largo de la costa Oeste de Baja California. Sin embargo, el resultado aquí encontrado, difiere de la hipótesis planteada inicialmente, (Soulé, 1971), sobre el hecho de encontrar una mayor variabilidad genética para demos situados al centro del rango de la distribución geográfica de la especie, en comparación con los asentados en la periferia de la misma.

El polimorfismo siempre está referido a la variabilidad dentro de una población. Este es el resultado de la ocurrencia simultánea en una población de varios factores genéticos (arreglos distintos de genes o alelos). El valor de polimorfismo obtenido para esta población (56%), es el más alto de los reportados para la misma especie en la costa oeste de Baja California, para cuyas poblaciones fluctúan entre 33% y 45.4%. Este valor también está por encima del valor reportado por Selander y Kaufman (1973) para invertebrados. Estos autores encuentran un intervalo de polimorfismo generalmente entre 25 y 50% en invertebrados pequeños. Asimismo, Berger (1972) y Snyder y Gooch (1973) (citados por Gooch, 1975) reportan un valor

de polimorfismo del 50% , en 10 loci analizados del gasterópodo marino Littorina saxatilis .

A lo largo de los últimos años ha quedado claro que el polimorfismo enzimático detectado electroforéticamente está ampliamente extendido entre las poblaciones naturales. La noción de que el polimorfismo es de valor adaptativo, está aceptada como hipótesis dentro del campo científico. Aunque este punto no ha sido definitivamente demostrado, está apoyado por muchos argumentos indirectos. El punto de vista más ampliamente aceptado es que el polimorfismo es mantenido en las poblaciones naturales por alguna forma de selección equilibradora (Johnson 1980, citado por Ayala,1980). Johnson propone que la selección no actúa sobre loci polimórficos individuales, sino más bien sobre fenotipos metabólicos integrados y que realmente el polimorfismo enzimático es seleccionado específicamente, dado que amortigua la integración funcional respecto a la perturbación ambiental.

El valor alto de polimorfismo obtenido para este demo en particular, sugiere una gran ventaja selectiva. Mayr (1963) apunta que la reducción en las frecuencias de individuos homocigotos podría sugerir

una posible ventaja selectiva. Este argumento puede ser válido para esta población, ya que la reducción en las frecuencias de individuos homocigotos plantea la posible existencia de individuos heterocigotos, lo que dará la posibilidad de aumentar las frecuencias de unos alelos a expensas de otros, y dotar a la población con mayor ventaja selectiva o capacidad de adaptación en aquellos individuos que presenten tales fenotipos en el medio ambiente natural. Esto habla de un polimorfismo genético que refleja una respuesta fisiológica frente a la variación ambiental.

La otra herramienta de la genética de poblaciones utilizada para medir variabilidad genética es la heterocigosis (observada y esperada). Ambas en sus valores obtenidos, no muestran diferencias significativas como se observa en la tabla V. Este resultado nos permite presumir de un posible equilibrio entre las frecuencias observadas y las genotípicas esperadas para el equilibrio de Hardy-Weinberg. Este equilibrio asumido, quedó demostrado con el resultado de la prueba estadística de " χ^2 " entre

TABLA V.- Valores promedio de heterocigosis para cada una de las poblaciones del caracol *Astraea undosa* de la costa oeste de Baja California. (Heterocigosis promedio observada (Ho), esperada (He), Heterocigosis por individuo (Hi) y polimorfismo poblacional (P).

- 1 Romero-Romero (1989)
 2 Urbina-Sánchez (1990)
 3 Suárez-Vásquez (1989)

	B. TORTUGAS ¹	ROSARIO ²	BAHIA TODOS SANTOS ³	SAN IGNACIO
Ho	0.16	0.16	0.08	0.18
He	0.20	0.15	0.12	0.20
Hi	0.18	0.15	0.11	0.15
P	45.4%	33%	40%	56%

las frecuencias alélicas y genotípicas del equilibrio de Hardy-Weinberg. Ahora, si esta población se encuentra en equilibrio, según el modelo teórico de Hardy-Weinberg, hay por lo menos tres premisas que se deben de cumplir:

1) Que haya un apareamiento al azar entre los individuos de la población. Esta condición se cumple ya que el caracol *Astraea undosa* es un organismo ovíparo de fecundación externa. Con lo cual se supone el apareamiento en forma azarosa de los individuos.

2) Que no existan procesos evolutivos sistemáticos tales como; mutación, migración y selección natural. Las mutaciones son consideradas como fuentes de variación genética, pero a tasas muy bajas (Dobzhansky et al, 1977). Acerca de este proceso Scheltema (1978), encuentra que las tasas de mutación muestran ser muy bajas, entre 10^{-6} a 10^{-8} sustituciones por genoma, por generación, en determinaciones experimentales de poblaciones de invertebrados. Ahora bien, la selección natural debió actuar y seleccionar probablemente los alelos necesarios para responder a cambios en el medio ambiente (al considerar la tasa lenta de mutación), y acumularlas a través del tiempo en la población.

La selección de que se habla no debe de actuar direccionalmente, ya que en ese caso la erosión por una tasa evolutiva rápida, disminuiría la variabilidad de la especie (Soulé, 1980).

La migración es otro proceso sistemático que influye en el equilibrio genético. Probablemente hay una migración de larvas de las poblaciones nortenas más cercanas, pero sin alteración de las frecuencias de los alelos. Si comparamos las frecuencias de loci polimórficos que reporta Romero-Romero (1989), en la población de Bahía de Tortugas B.C.S. , aunque se observa mayor diversidad alélica, los alelos comunes se encuentran en frecuencias similares (Tabla VI). La diversidad de alelos encontrada por el pueden plantearse hipotéticamente debida a la selección de alelos especialistas en el reservorio génico, ya que las fluctuaciones en las condiciones ambientales, pudieran haber conducido a esa población a la fijación de más alelos para favorecer una mejor adaptación a esas condiciones, mientras que frente a la laguna San Ignacio, las condiciones ambientales pudieran no ser tan diversas , aunque pensando en esta población, situada en una zona transicional entre aguas calidas y templadas, esto le confiere una

TABLA VI.- Comparacion entre alelos de loci polimórficos registrados para la población de *Astraea undosa*, para Bahía de Tortugas B.C.S., y San Ignacio B.C.S.

LOCUS	Bahía Tortugas						San Ignacio		
MDH	105	100	98	94			100	98	
	0.11	0.61	0.12	0.15			0.81	0.09	
AAT ₂	104	100	96	94			104	100	98
	0.10	0.78	0.06	0.04			0.43	0.48	0.07
LAP ₂	102	100	99	87			102	100	98
	0.01	0.81	0.15	0.01			0.07	0.86	0.04
EST ₃	108	102	100	98	96	94	100	98	
	0.01	0.07	0.52	0.13	0.14	0.02	0.75	0.25	

variabilidad ambiental y por ende alta variabilidad genética .

La situación geográfica de este demo, aparentemente le confiere la probabilidad de asentamientos de larvas de las poblaciones del norte. El patrón de corrientes locales que influencia el probable transporte de masas de agua de Bahía Tortugas hacia la laguna San Ignacio, B.C.S. el cual es en dirección norte-sur, lo que puede significar el acarreo de larvas hacia la población en estudio.

Otro factor que contribuye a la migración de larvas, son sus amplios tiempos de estancia en el plancton (7-15 días), sugeridos por experimentos en laboratorio (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1989), intervalo que puede aumentar en el medio natural, debido a que la larva no se fijará hasta no encontrar un habitat adecuado. Con respecto a esta migración (dispersión larval efectiva) entre poblaciones, Scheltema (1978) afirma que se contrarrestarán los eventos impredecibles de gran escala, que mantienen o mueven los rangos geográficos de distribución de una especie, donde quiera y siempre que existan condiciones favorables . Por tanto podríamos hablar de un flujo genético de

poblaciones de norte a sur en la costa occidental de la Península de Baja California, por medio principalmente de dispersiones larvales, inducidas por regímenes de corrientes principalmente y por estadios larvarios de considerable duración, lo que hace posible una continuidad genética. Al respecto, Levins (1964) (citado por Scheltema, 1978) propone que la significancia adaptativa del flujo génico (dispersión larval efectiva), es que éste permite a las poblaciones responder, bajo selección natural, a las fluctuaciones durante largos períodos en el medio ambiente, aun cuando amortigua la respuesta a oscilaciones locales efímeras.

Este intercambio genético puede haber establecido el equilibrio génico en esta población, y la homogeneidad genética de las poblaciones de *Astraea undosa* a lo largo de la costa oeste de Baja California, como lo demuestra el resultado presentado por Rosa-Vélez y Fernández-Apango (1989).

3) Que el tamaño de la población debe ser grande. El caracol *Astraea undosa* tiene una amplia distribución; se encuentra desde Punta Concepción (Santa Barbara, California) a Punta Abreojos B.C.S., México (Morris et al. 1983).

Soulé (1980) cita la dificultad de la correlación existente entre los tamaños de población y la heterocigosis. Si bien el tamaño poblacional es la variable más importante en la teoría de la genética de las poblaciones, es la de menos fácil cuantificación en el medio ambiente. Otros investigadores (Soulé, 1971; Snyder y Gooch, 1973; citados por Soulé, 1980) han señalado una correlación entre heterocigosis y capacidades de dispersión o flujo génico.

Por otro lado Nei et al, (1975) (citado por Soulé, 1980) sostienen que las poblaciones pequeñas llegan a un equilibrio con más rapidez que las poblaciones grandes, pero con niveles más bajos de heterocigosis y que la velocidad de aumento de la heterocigosis en cualquier tiempo dado es proporcional al tamaño de la población.

Soulé (1980) propone tres factores que contribuyen a conferir estos niveles altos de heterocigosis:

- 1) La población o linaje debe ser muy grande, aparentemente, sólo las poblaciones grandes pueden mantener niveles altos de polimorfismo.
- 2) La población o el linaje deben ser viejos; los polimorfismos nuevos suelen aparecer a una

velocidad muy lenta, de manera que el número de generaciones desde el último cuello de botella es muy importante .

3) La población o linaje deben de evolucionar muy lentamente debido a que la selección direccional probablemente erosiona la heterocigosis.

Estos tres factores se cumplen para esta población, ya que el caracol *Astraea undosa* tiene una amplia extensión geográfica y está depende más o menos de la flexibilidad fisiológica y del comportamiento. Con respecto a esto Ramade-Villanueva (1989) apunta que *A. undosa* se encuentra entre los organismos de bajo control fisiológico y de comportamiento : sin embargo, dentro de los invertebrados esta especie no puede ubicarse como de textura gruesa, según la teoría del grano ambiental propuesta por Levins (1968) y de la cual el afirma que estos van a desarrollar morfos especializados tratando de incrementar sus capacidades adaptativas para el máximo aprovechamiento de los recursos tróficos, así como la adaptación a las diferentes fluctuaciones ambientales. Debido a que en relación con otros invertebrados (de menor movilidad y tamaño o formas sésiles como bivalvos) la percepción de su entorno es menos incierta, es decir, sus mecanismos

de control homeostático y fisiológico, así como de movilidad y mayor tamaño, no son comparativamente bajos. De igual manera, lo grande de esta población queda subrayado en las amplias densidades que posee Astraea undosa y las cuales pueden estar relacionadas con las amplitudes ecológicas que puede abarcar en el medio ambiente.

Astraea undosa puede considerarse de linaje antiguo, ya que se ubica dentro de los arqueogastrópodos, grupo que reúne a formas primitivas de moluscos.

La última condición queda por demostrarse en función del grado de diversificación específica del género.

Después de haber establecido el estado genético del demo del caracol Astraea undosa, asentado en la laguna San Ignacio B.C.S., se hará ahora una observación muy general, en el ámbito ecológico, en referencia a un pequeño epibionte detectado en los individuos de esta población local.

Se encontró para esta especie, durante el período del procesamiento de la muestra en laboratorio, dentro de la concha una considerable cantidad de un pequeño bivalvo, que posteriormente

fue identificado como Lithophaga plumula (* Torres--Moye, G. Com.Personal). Ahora bien, el efecto de esta infestación notado en primera instancia, es que le causa un debilitamiento de la concha. Las preguntas al respecto son:

1) El debilitamiento de la concha es inherente a la condición fisiológica (y por lo tanto genética) de Astraea undosa ante el ambiente que experimenta en el demo de San Ignacio y por lo tanto, facilita la infestación de L. plumula; o, 2) Es el epibionte el que le provoca el desorden fisiológico que conduce al debilitamiento de la concha.

La respuesta a estas preguntas no esta al alcance del presente estudio, pero estas se revelarían con estudios particulares de ecología principalmente.

* TORRES-MOYE, G. F.C.M. U.A.B.C

VIII CONCLUSIONES .

1) La población del caracol *Astraea undosa* asentada en la laguna San Ignacio B.C.S., mostró ser una población genéticamente en equilibrio, dados los altos valores de variabilidad genética, basados en polimorfismo y heterocigosis, y son estos los más altos registrados, al compararse con las distintas poblaciones reportadas en su distribución.

IX LITERATURA CITADA .

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

Angel-Meza, R.E. 1990. Madurez gonadal y fecundidad del caracol Astraea undosa (Mollusca: gasteropoda) en Bahía de Tortugas B.C.S. . Tesis licenciatura . Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C. 58pp.

Ayala, F.J. 1980. Genética molecular y evolución. En: (Ayala, F.J. ed). Evolución molecular. Edit. Omega . Barcelona, España. 1-20p.

Berger, E.M. 1972. The distribution of genetic variation in three species of Littorina . In: Mechanisms of evolution and population genetics. (Gooch, J.L. Ed.) . John Wiley & Sons ed. Great Britain .VOL. II(1): 349-400.

Becerril-Bobadilla, F.J.U. 1988. Distribución y abundancia del caracol Astraea undosa, Wood, 1828 (Mollusca: Gasteropoda) en la Bahía Todos Santos de mayo a octubre de 1987. Tesis licenciatura . Facultad de Ciencias Marinas .U.A.B.C. 48 p.

Contreras, F . 1985. Lagunas costeras mexicanas . Centro de ecodesarrollo. Secretaría de Pesca. México. 69p.

Dobzhansky, T. ; F.J. Ayala ; G.L. Stebbins and J.W. Valentine . 1977. Evolution. W.H. Freeman and Company. U.S.A. 572 pp.

Gooch, J.L. 1975. Mechanisms of evolution and populations genetics. En: (Kine, O. ed). Marine ecology. John Wiley & Sons ed. Great Britain. VOL. II(1). 449 pp.

Johnson, G.B. 1980. Polimorfismo genético y función enzimática. En: (Ayala, F.J. ed.). Evolución molecular. Edit. Omega. Barcelona, España. 47-60 pp.

Keen, M. 1978. Sea shell of tropical west america. Stanford University Press. E.U.A.

Leighton, D.L. 1966. Studies of preference in algivorous invertebrates of southern California kelps beds. Pacific Science. 20:104-113.

Mayr, E. 1963. Animal species and evolution . The Belknap Press of Harvard University Press. Massachussets, U.S.A. 783 pp.

Mclean, J.H. 1962. Sublittoral ecology of kelp beds of the open coast area near Carmel, California. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole. 122:95-114.

Mclean , J.H. 1970. New eastern pacific subgenera of Turbo Linnaeus, 1758. And Astraea Roding, 1778. The veliger. 13(1): 71-72.

Moreno, J.O. 1990. Caracterización química del caracol Astraea undosa y evaluación de la calidad y estabilidad de productos procesados. Tesis licenciatura . Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C. . 62pp.

Morris, R.H.; D.P. Abbott and E.C. Haderlie. 1983. Intertidal invertebrates of California . Stanford University Press. 690 pp.

Newkirk, G.F. 1980. Review of genetics and the potential for selective breeding of commercially important bivalves. Aquaculture . 19: 209-228.

North, W.J. 1971. The biology of giant kelps beds (Macrocystis) in California. Nova Hedwigia, 32:1-60.

Ramade-Villanueva, M.R. 1989. Efecto del tamaño corporal, temperatura y sexo sobre la tasa metabólica del caracol Astraea undosa (Mollusca:Gasteropoda) en condiciones de invierno. tesis licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C. 47pp.

Romero-Romero E. 1989. Variabilidad genética del caracol Astraea undosa (Wood,1828) en una población de Bahía Tortugas B.C.S., sujeta a extracción

comercial. Tesis licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas . U.A.B.C. 61 pp.

Rosa-Vélez, J. 1986. Variabilidad genética poblacional en ostiones de la especie Crassostrea virginica del Golfo de México. Tesis doctorado . Universidad Nacional Autónoma de México. 124pp.

Rosa-Vélez, J; G. Torres-Moye; A.H. Silva-Loera; J.A.E. Almanza-Heredia y E. Almanza-Heredia. 1987. Evaluación integral de los recursos con potencial económico de la costa oeste de Baja California : el caracol Astraea undosa (Mollusca : Gasteropoda) . Primer informe académico. DGICSA.SEP. 30pp.

Rosa-Vélez, J. & J.A. Fernández-Apango. 1989. Populations genetics of the snail Astraea undosa . Abstr. 10th.international Malacological Congress. Tubingen, Germany . 210.

Rosenthal, R.J.; W.D. Clarke and P.K. Dayton. 1974. Ecology and natural history of a stand of giant kelp, Macrocystis pyrifera .off Del Mar. California . Fish. Bull. U.S. 72:670-684.

Salas-Garza A. & R. Searcy-Bernal. 1989. Larval and postlarval development of Astraea undosa (Mollusca:Gastropoda) under culture conditions. Abstr. 10th. international Congress. Tubingen,Germany. 217.

Scheltema, R.S. 1978. On the relationship between dispersal of pelagic veliger larvae and the evolution of marine prosobranch gastropods. En: (Battaglia, B. and A. Beardmore,eds.). Marine organisms. Genetics, ecology and evolution . Plenum press. New-York and London . 303-323 .

Selander, R.K. 1980. Variación genética en las poblaciones naturales. En: (Ayala, F.J. ed.). Evolución molecular. Edit. Omega. Barcelona, España. 21-46 pp.

Selander, R.K. and D.W. Kaufman . 1973. Genic variability and strategies of adaptation in animals . Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. . 70: 1875-1877.

Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1979. Biometria principios y metodos estadísticos en la investigación biológica. A. Blume ediciones. España. 832 pp.

Soulé, M. 1980. Variación aloenzimática sus determinantes en el espacio y en el tiempo. En: y(Ayala, F.J. ed.) . Evolución molecular. Edit. Omega. Barcelona, España. 61-79.

Suárez-Vásquez, A. 1989. Genética bioquímica en caracoles de la especie Astraea undosa de la Bahía de Todos Santos B.C., México. Tesis licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas . U.A.B.C. 66 pp .

Urbina-Sánchez, G. 1990. Estudio electroforético de la población comercial del caracol Astraea undosa del Rosario B.C., México. Tesis licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C. 47pp.