

**Informe final\* del Proyecto L226**  
**Variabilidad genética en las poblaciones naturales de la almeja catarina *Argopecten ventricosus-circularis* (Sowerby II, 1842)**

**Responsable:** Dr. Alfonso N Maeda Martínez

**Institución:** Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste SC  
División de Biología Experimental  
Unidad de Patología Marina  
Laboratorio de Biología Molecular

**Dirección:** Apartado Postal 128, La Paz, BCS, 23000 , México  
Km 0.5 carretera a la telefónica terrenos El Conchalito, La Paz, BCS,  
23000 , México

**Correo electrónico:** [amaeda@cibnor.mx](mailto:amaeda@cibnor.mx)

**Teléfono/Fax:** 01(112)5 36 33 ext 126, 01(112)5 36 26, 01(112)5 36 67 Fax: 01(112)5  
47 15

**Fecha de inicio:** Diciembre 15, 1997

**Fecha de término:** Noviembre 29, 1999

**Principales resultados:** Cartografía, Informe final, Hoja de cálculo

**Forma de citar\*\* el informe final y otros resultados:** Maeda Martínez, A. N., 2000. Variabilidad genética en las poblaciones naturales de la almeja catarina *Argopecten ventricosus-circularis* (Sowerby II, 1842). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste SC, **Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. L226**. México D. F.

**Forma de citar hoja de cálculo** Maeda Martínez, A. N., 2000. Variabilidad genética en las poblaciones naturales de la almeja catarina *Argopecten ventricosus-circularis* (Sowerby II, 1842). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste SC, **Hoja de cálculo SNIB-CONABIO proyecto No. L226**. México D. F.

**Resumen:**

El presente proyecto pretende confirmar la hipótesis de que los grandes bancos de almeja catarina que ocasionalmente se forman en Bahía Magdalena, provienen de progenitores que se distribuyen en zonas muy profundas no accesibles a la pesca, a lo largo de la plataforma continental de Baja California. Esto tiene una gran relevancia para la conservación de especie ya que de confirmarse la hipótesis, la preservación de la especie estaría asegurada independientemente de los niveles de explotación a los que sea sometida dentro de la Bahía Magdalena. La primera etapa del proyecto pretende conocer el grado de variabilidad genética que existe en las poblaciones naturales de almeja catarina en la costa de Baja California Sur. La información obtenida permitirá hacer las recomendaciones pertinentes al caso, de manera que se asegure la permanencia de diversidad genética en las poblaciones de esta importante especie de moluscos bivalvo. Para el muestreo de las poblaciones de la plataforma continental, se utilizará el barco de investigación BIP II propiedad del CIBNOR, y simultáneamente se colectarán almejas dentro de las Bahías Magdalena en el Pacífico de Baja California (zona 03) y Bahía Concepción en el Golfo de Baja California (zona 04). Las almejas de la plataforma se colectarán por medio de redes de arrastre para camarón y las de las Bahías por buceo autónomo. Con las muestras primeramente se realizarán comparaciones bioquímicas, buscando alelos de enzimas que pudiesen ser utilizados como marcadores de diversidad para la población bajo estudio. Para ello se realizarán corrimientos electroforéticos de extractos de las almejas colectadas en geles de almidón en presencia de inhibidores de proteasas. Posteriormente a la separación de las proteínas se revelarán con mezclas de reactivos específicos para detectar la presencia de ciertas enzimas. La siguiente etapa consiste en hacer comparaciones más finas mediante el uso de enzimas de restricción (RFLP). Para ello se utilizará como primera opción ADN genómico. Como segunda opción, se propone como estrategia la amplificación mediante el uso de sondas específicas utilizando para ello, ADN genómico proveniente de las diversas poblaciones de almejas, como templado base, y como primeras secuencias consenso de las subunidades grande

(LS) y/o pequeña (SS) de ARN ribosomal. Las amplificaciones obtenidas serían analizadas en su patrón de restricción con diferentes enzimas con la finalidad de realizar comparaciones. La información obtenida se utilizará para: la formulación de modelos de las relaciones genéticas intra e interpoblaciones, mediante la utilización de programas estadísticos computacionales (STATISTICA), en particular, mediante el uso de análisis de conglomerados (cluster).

---

- \* El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
- \*\* El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

**CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE S.C.**

**PROYECTO CONABIO L226**

**VARIABILIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES NATURALES DE  
ALMEJA CATARINA (*Argopecten ventricosus=circularis* (SOWERBY II, 1842)).**

**INFORME FINAL**

**Grupo Participante:**

**DR. ALFONSO N. MAEDA MARTINEZ  
DRA. NORMA HERNANDEZ SAAVEDRA  
M.C. EDUARDO BALART PAEZ  
BIOL.. EDGAR AMADOR SILVA  
TEC. ARTURO SIERRA BELTRAN  
pBIOL. DELIA ROJAS**

**Asesor del proyecto:**

**DR. ALBERTO ABREU GROBOIS**

**SEPTIEMBRE DE 1999**

## INTRODUCCION

Dado que en México existe un sistema de control oficial del aprovechamiento de las poblaciones naturales de los recursos marinos mediante el establecimiento de una cuota de captura. En el caso de los moluscos bivalvos, este se basa en prospecciones de los bancos naturales, resultando en el establecimiento de vedas temporales y de tallas y volúmenes de captura. Un caso particular es la escalopa conocida en México como almeja catarina *Argopecten ventricosus=circularis*.

Las capturas de esta especie son muy variables, pero han alcanzado volúmenes récord de más de 2500 toneladas métricas de callos por año en 1989 y 1990 en Bahía Magdalena, en la costa Pacífico de Baja California. La explotación de esos bancos dejó en esos años una derrama muy importante de recursos económicos, beneficiándose alrededor de 10 000 personas. Se ha propuesto (Maeda-Martínez *et al.*, 1993) que los grandes bancos de almeja que se forman en Bahía Magdalena, no se han originado de progenitores locales, sino que son el producto del desove de grandes bancos naturales localizados en la Plataforma Continental de la Península de Baja California, fuera de Bahía Magdalena. Estas poblaciones, inaccesibles para la pesca comercial debido al fondo rocoso donde se encuentran, fueron localizadas por investigadores del CIBNOR en un crucero de investigación, a bordo del B/O "El Puma", empleando dragas lanzadas hasta los 180 m de profundidad. Se conoce la localización exacta de dichos bancos. Con base en detalladas observaciones relacionadas a las densidades de las semilla colectada en presencia o ausencia de bancos de almeja catarina en la Bahía, se construyó un modelo que propone que durante los años fríos, grandes números de larvas de *A. ventricosus* son transportadas al interior de la Bahía formando los grandes bancos que se depositan en el fondo si las condiciones climáticas son adecuadas (Maeda-Martínez *et al.*, 1993).

En el presente proyecto, pretendemos demostrar las predicciones del modelo es decir, que existe una relación filogenética muy estrecha entre las poblaciones de la Plataforma Continental con las de Bahía Magdalena. Esto traería como beneficio el poder explotar las poblaciones de Bahía Magdalena hasta su agotamiento sin el menor riesgo de extinguir la especie de ese sitio porque el germoplasma estaría asegurado en la Plataforma Continental. Por otra parte, en caso de que no se identificaran diferencias genéticas entre poblaciones, sería posible llevar a cabo acciones de repoblamiento de zonas sobreexplotadas o introducciones en aquellas zonas donde exista el potencial de cultivo, empleando ejemplares cuarentenados para evitar introducción de enfermedades, pero sin el riesgo de alterar genéticamente a las poblaciones locales.

Para poner a prueba la hipótesis anterior, en este proyecto se plantearon los siguientes objetivos:

## **OBJETIVO GENERAL:**

Confirmar las relaciones genéticas existentes entre las poblaciones naturales de almeja catarina de la plataforma continental de Baja California y de las Bahías Magdalena y Concepción.

## **OBJETIVOS PARTICULARES:**

- 1.- Establecer linajes o patrones genéticos familiares en las poblaciones naturales de la especie en Baja California Sur.
- 2.- Confirmar la hipótesis de que las poblaciones de la plataforma continental de Baja California son los progenitores de las almejas que forman los bancos naturales de almejas dentro de la Bahía Magdalena.
- 3.- Elaborar recomendaciones para un programa de manejo de especies.

Para lograr estos objetivos, en el presente estudio se aplicaron tres técnicas de genética molecular en tejidos de almeja catarina de diversas poblaciones: análisis de aloenzimas, análisis de polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción (RFPL) con ADN genómico y amplificación aleatoria de ADN genómico polimórfico (RAPDS). Estas técnicas han sido empleadas exitosamente por otros investigadores para diferenciar poblaciones en moluscos pectinidos (Mathers, 1975; Skibinsky *et al.*, 1978; Beaumont, 1982; Koehn *et al.*, 1984; Huelvan, 1985; Varvio, *et al.*, 1988; Ríos *et al.*, 1999).

## **MATERIALES Y METODOS**

### **MUESTREO DE EJEMPLARES DE ALMEJA CATARINA.**

Inicialmente, el proyecto contemplaba solamente el muestreo de organismos provenientes de las poblaciones de la plataforma continental y de Bahía Magdalena en la costa occidental de la península de Baja California. Para contrastar los resultados, se consideró estudiar la población de Bahía Concepción, la cual se encuentra geográficamente distante al estar ubicada dentro del Golfo de California. Conforme avanzó el proyecto, se encontró conveniente ampliar el número de poblaciones para cubrir casi la totalidad del área de distribución de la especie reportada por Keen, 1971), que va desde Baja California hasta Perú. De esta forma, se obtendría el espectro casi completo de variabilidad genética de la especie. Los ejemplares fueron colectados de poblaciones naturales mediante buceo autónomo o empleando redes de arrastre tipo camaronerías dependiendo de la profundidad y de las características de la localidad. En cada sitio se registraron las coordenadas de localización.

Posteriormente, los organismos fueron congelados en nitrógeno líquido y luego se trasladaron al laboratorio en donde se les tomaron las siguientes medidas ; alto, ancho y grueso de la concha, peso húmedo total, peso húmedo del tejido, peso húmedo del músculo y el peso húmedo del resto de los tejidos.

## PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Para unificar criterios respecto a la porción del animal a ser empleado para el estudio, se realizaron ensayos preliminares de extracción de DNA con diferentes porciones corporales: mantos, gónadas y músculo aductor, llegando a la conclusión de que el músculo presentaba mejores características porque proveía suficientes tejidos para los múltiples análisis, permitía una manipulación mas simple de la muestra por su mayor rigidez, etc. En el laboratorio, los organismos fueron desconchados y posteriormente se disectó el músculo con bisturí. Una vez obtenido el músculo, se cortaron secciones cúbicas del tejido de 3 mm con el bisturí y finalmente se realizaron las extracciones de proteínas solubles y ácidos nucleicos aplicando la técnica estandarizada en el laboratorio según cada caso.

## ANÁLISIS DE ALOENZIMAS

Para lo análisis enzimáticos, las secciones de tejido se homogenizaron en buffer de fosfatos Tris 50Mm, pH 8.0 mediante un homogenizador Kontes (Pellet Pestle Motor) en un baño de hielo. Los homogenizados se centrifugaron a 8944 x g (para eliminar los restos celulares) durante 10 minutos a 4°C. Los sobrenadantes obtenidos se transfirieron a tubos nuevos. A estos sobrenadantes se les determino la concentración de proteínas mediante el metodo de Lowry (1951), para estandarizar el contenido de proteínas de las muestras a 0.6 mg/ml.

De estos stocks (0.6 mg/ml) se prepararon las diluciones correspondientes para cargar en los geles de poliacrilamida (preparados al 7.5 % de acuerdo al método descrito por Davis, 1964), 4 µg de proteína en cada línea. Las electroforesis se llevaron a cabo en una cámara Miniprotean II (Biorad), la cual contenía el buffer de corrimiento (Tris-Glicina) preenfriado a 4°C, aplicando una corriente de 40 V al gel de empaquetamiento y de 70 V al gel de separación. Finalmente, los geles se tiñieron para evidenciar las actividad algunas enzimas (Tabla 1).

## ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO DE LA LONGITUD DE FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN (RFPL).

Para llevar a cabo los análisis de RFPL primeramente se estandarizó la concentración de los stocks de ADN genómico a una concentración final de 100 ng/μl (100 μg/ml) . Diez microlitros del stock de ADN (1μg), se mezclaron con 2.5 μl de buffer10X (según la enzima ensayada) y una unidad de la enzima de restricción (Tabla 2), y finalmente se aforó a 25 μl con agua destilada esteril. Los componentes de la mezcla de reacción se mezclaron mediante un pulso de centrifuga, y los tubos se incubaron en un baño maría a 37°C durante una hora. Posteriormente se realizo una electroforesis en geles de agarosa al 0.8% en buffer TBE, aplicando una corriente de 70 V a temperatura ambiente durante 50 min. Despues de la electroforesis los geles preteñidos con EtRr se analizaron bajo luz UV y se registraron mediante un fotodocumentador digital.

Tabla 2. Enzimas de restricción utilizadas en los análisis RFPL.

Número	Enzima	Buffer requerido <sup>a</sup>	Secuencia de reconocimiento
1.	<i>Alu</i> I	A	AGCT
2.	<i>Bam</i> HI	B	GATCC
3.	<i>Bsp</i> 143	B	GATC
4.	<i>Bst</i> XI	H	CCA(N5)NTGG
5.	<i>Eco</i> RI	H	GAATC
6.	<i>Hae</i> III	M	GCC
7.	<i>Hind</i> III	B	AGCTT
8.	<i>Hinf</i> I	H	CANTC
9.	<i>Kpn</i> I	L	GGTACC
10.	<i>Sac</i> I	A	GAGCTC
11.	<i>Sal</i> I	H	GTCGAC
12.	<i>Pst</i> I	H	CTGCAAG
13.	<i>Xba</i> I	H	TCTAGA

<sup>a</sup> Según especificaciones del fabricante (Boheringer Mannheim)

## AMPLIFICACIÓN ALEATORIA DE ADN POLIMÓRFICO (RAPDS)

Al igual que en los análisis de RFPL , para llevar a cabo la técnica de RAPDS primeramente se procedió a estandarizar la concentración de los stocks de ADN genómico a una concentración final de 100 ng/μl (100 μg/ml) . Cien nanogramos de ADN (1 μL del stock 100 μg/ml) fueron colocados en un tubo Eppendorf de 0.65 ml que contenía 1 μl de la secuencia random a probar (Tabla

3) del oligo (10 nM), 2.5 µl de PCR buffer 10X, 1 µL de dNTPs 10 mM, 19.3 µl de agua mili-Q destilada estéril y 0.2 µl de Taq polimerasa (de un stock de 5 U/µl).

Tabla 3. Secuencia de los oligos random utilizados en este estudio.

Número	Oligo	Secuencia
1	SV19	AGA GTT TGA T
2	SV20	GGT TAC CTT G
3	SV21	AGG GTT CTT G
4	SV22	TCA CGG TGC A
5	SV23	GTC GCC GAC T
6	SV24	GTA GAC GAG C
7	SV25	AAA CGT CGG G
8	SV26	ACT GAC TGC C
9	SV27	GAC TTT GCG A
10	SV28	CGC GAA GAA T
11	SV29	CCG AAA ACG C
12	SV30	CGA CCA GAG C
13	SV31	ATC TGG CAG C
14	SV32	TTC CGG TTG A
15	SV33	ATG GAC ACC A
16	XL-2	GGG TAA CGC C
17	XL-3	GTG ATC GCA G
18	XL-4	GTT GCG ATC C
19	XL6	GTA GAC CCG T
20	XL-7	TCC GCT CTG G

Los componentes se mezclaron mediante un pulso de centrifuga y se colocaron en un termociclador (Techne Cyclogene) con el programa definido en la Tabla 4.

Tabla 4. Programa de amplificación RAPD de ADN genómico de almeja catarina.

Número	Paso	Temperatura	Tiempo	Numero de ciclos
1.	Desnaturalización	95°C	2 min	1
2.	Desnaturalización	95°C	1 min	40
	Alineamiento	35°C	1.5 min	
	Extension	72°C	1 min	
3.	Extension final	72°C	3 min	1
4.	Acondicionamiento	4°C	10 min	1

Los productos obtenidos de la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.2% en TBE. De cada reacción de PCR, se tomaron 10 µl y se mezclaron con 2 µl de buffer de carga. Como estandar y para determinar el tamaño de los productos generados, se utilizó el 1Kb DNA ladder (Life Technologies). Los geles se dejaron correr durante 60 minutos aplicando un voltaje constante de 70 V y posteriormente, los geles se analizaron bajo luz



ultravioleta, documentándose los patrones de bandeo mediante el uso del sistema de fotodocumentación UVITEC. El tamaño de los fragmentos y el registro digital de las imágenes de se llevo a cabo mediante el uso del sistema UVITEC y del software UVIDOC.

## RESULTADOS

### MUESTREO DE ORGANISMOS

En el presente trabajo, se colectaron 140 ejemplares de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) provenientes de siete poblaciones naturales de almeja catarina, incluyendo una de Guayaquil, Ecuador (Tabla 5). El número buscado de ejemplares por sitio de colecta fue de 10 o más individuos. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos efectuados para colectar los organismos de la plataforma continental de Baja California, solamente se logró capturar cuatro ejemplares en dos cruceros oceanográficos a este sitio, a bordo del Barco BIP II. La localización de los sitios de muestreo en México se muestran en la Figura 1. Los registros de altura y anchura de las conchas de los ejemplares colectados, se anexan en diskette en el archivo Morfometrías.xls en Excell 5.0

Tabla 5. Sitios de muestreo, número y método de colecta de ejemplares de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*).

Sitio de muestreo	No. Total de organismos colectados	Método de colecta
Bahía Magdalena	8	Buceo
Bahía de La Paz	28	Buceo
Bahía Concepción	10	Buceo
Plataforma Continental	4	Arrastre
Guaymas	30	Buceo
Guayaquil, Ecuador	30	Arrastre
Laguna de San Ignacio	30	Buceo
Total	140	

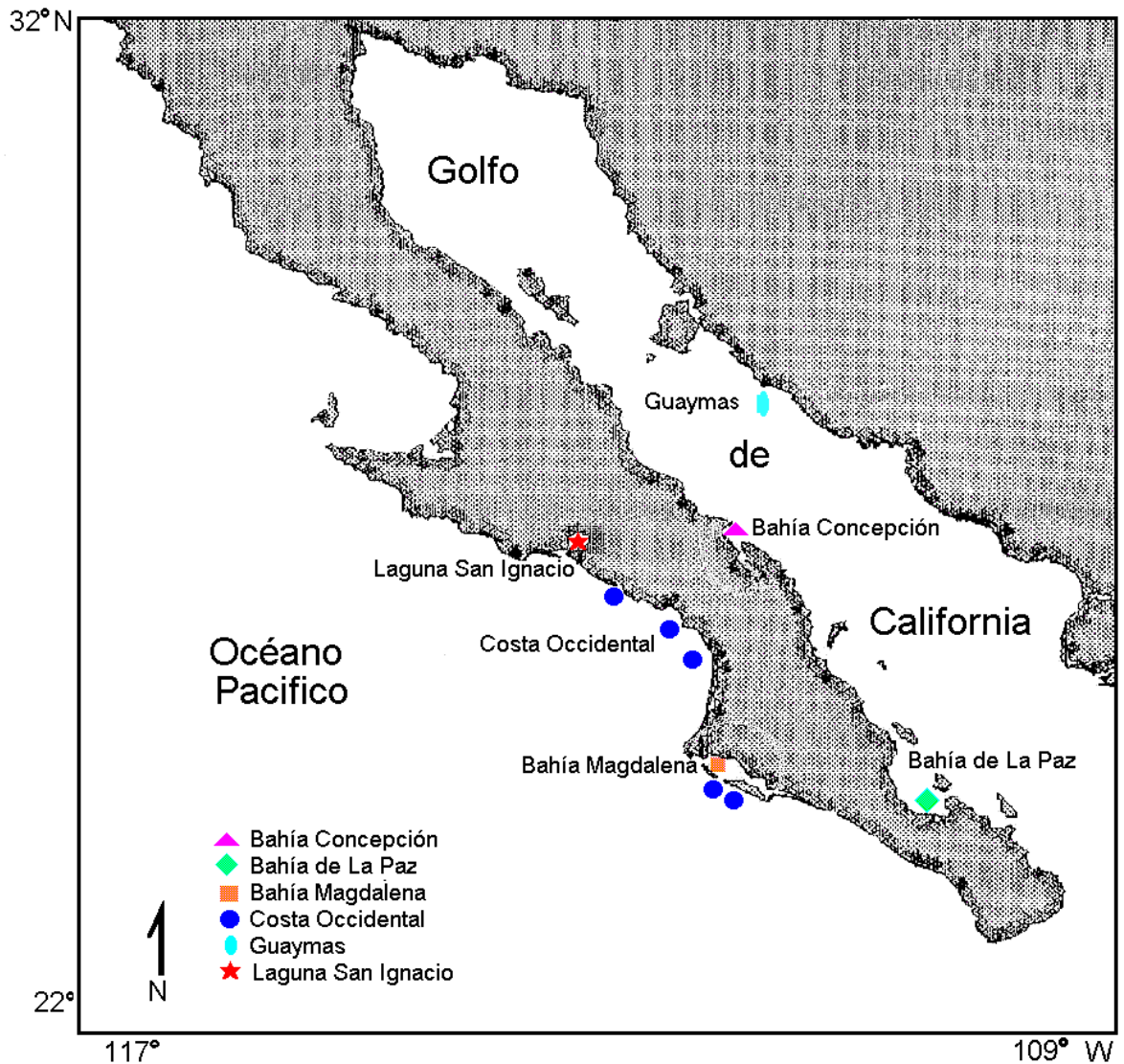


Figura 1. Localización de las poblaciones de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*), muestreadas en México,

## ANÁLISIS ENZIMÁTICOS

Los resultados de los diferentes patrones electroforéticos en geles de poli-acrilamida, se capturaron en el archivo anexo Aloenzimas.xls. En la Figura 2

se muestra el análisis de conglomerados (fenograma) donde se empleó el UPGA como regla de amalgamiento y la distancia Euclidiana como unidad de ligamiento. En el fenograma resultante se puede observar que la única población que se muestra compacta es la proveniente de Guaymas. El resto de los individuos analizados se muestran dispersos, lo cual no permite agruparlos en poblaciones genéticamente separadas.

#### ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO DE LA LONGITUD DE FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN (RFPL).

Los resultados de los patrones electroforéticos de las 11 enzimas de restricción probadas indican que no se obtuvieron patrones electroforéticos claros y analizables y por lo tanto, no fue posible incorporar estos datos a la base de datos. Las digestiones no generaron patrones de bandeo, y solamente se obtuvieron imágenes no digeridas o sobre digeridas de las muestras de ADN. Por lo tanto, se procedió a hacer el análisis del genoma de la almeja catarina (*A. ventricosus*), a través de la amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPDS).

#### AMPLIFICACIÓN ALEATORIA DE ADN POLIMÓRFICO (RAPDS)

De las 20 secuencias aleatorias probadas (Tabla 3), solo dos de ellas (la 28 y la 30) rindieron patrones electroforéticos en todas las muestras, siendo estos claros y analizables (Figuras 3 y 4). En consecuencia, los resultados de los diferentes patrones electroforéticos obtenidos fueron analizados mediante el uso del programa Statistica for Windows, aplicando un análisis de conglomerados utilizando como regla de amalgamiento UPGA y como unidad de ligamiento la Euclidiana. Los fenogramas resultantes se muestran en las Figuras 5, 6 y 7. La base de datos se grabó en un diskette (anexo) bajo el nombre de Oligos.XLS en hoja de cálculo Excell 5.0. Estos fenogramas indican resultados similares a los arrojados por el estudio de aloenzimas mas sin embargo, se observa un mejor agrupamiento cuando es utilizado como "primer" o cebador, el oligo número 28 para las poblaciones de Guaymas y Bahía de La Paz. En este caso, las diferencias son menos marcadas entre grupos y los niveles de disimilitud son menores. Cuando se usa el oligo 30 (Figura 6) o la combinación de los oligos 28 y 30 (Figura 7), los resultados son similares a los obtenidos con aloenzimas donde los grupos que se forman son heterogéneos y no corresponden como bloques a las localidades muestreadas.

## DISCUSION.

Los resultados del presente estudio tanto de aloenzimas como de RAPDS, indican que existe una gran variabilidad genética entre individuos de la misma especie, lo que no permite separar claramente poblaciones.

A excepción de los organismos de Guaymas para aloenzimas y Guaymas y Bahía de La Paz, para el oligo 28, donde los organismos se encuentran agrupados, el resto de los individuos considerados en este estudio aparecen dispersos en todos los fenogramas sin detectarse diferencias ni entre poblaciones separadas geográficamente como las del Pacífico de Baja California contra las del Golfo de California, ni entre poblaciones distantes como las del Pacífico de México con las de Ecuador.

Existen dos posibles explicaciones a lo encontrado. La primera es que exista efectivamente una alta variabilidad genética entre individuos producida por el flujo de material genético en toda la región, lo cual no permite el aislamiento genético de las poblaciones. Una de las regiones zoogeográficas mejor estudiadas del mundo es la región Panámica, la cual se extiende desde California Estados Unidos, hasta Perú (Keen, 1971). En esta zona, es común encontrar las mismas especies de la costa Pacífico de Baja California y del Golfo de California, en Panamá, Costa Rica, Ecuador y Perú. Posiblemente esto se deba a la existencia de patrones climáticos similares, pero sobre todo a la existencia de corrientes que favorecen la deriva larval a grandes distancias. En el caso de la almeja catarina, fue sorprendente haber encontrado ejemplares en la plataforma continental de Baja California viviendo a 180 m de profundidad, ya que esta especie era considerada como una especie de bahía al igual que la especie homóloga del Atlántico de América la "Bay Scallop" *Argopecten irradians*. Por lo tanto, es posible que esta especie se encuentre distribuida en forma de una megapoblación, a lo largo de la costa del Pacífico a grandes profundidades en bancos no detectables, favoreciendo la dispersión del material genético. Una evidencia clara de esto además de lo que sucede en Bahía Magdalena, es la ocurrencia de juveniles de almeja catarina en Bahía Concepción y en la Bahía de Bacoachibampo en Guaymas, cuando no existen reproductores ni en las costas ni dentro de las Bahías.

La otra explicación posible a la no detección de diferencias entre poblaciones, es que las técnicas empleadas en este estudio no hayan tenido la resolución suficiente para demostrar las diferencias buscadas. Beaumont (1982) logró distinguir cuando menos cuatro poblaciones del pectínido *Chlamys opercularis* aisladas genéticamente en las islas Británicas, empleando aloenzimas como marcadores genéticos. En su estudio, se probaron cuatro loci pero el locus Lap (leucine aminopeptidase), resultó monomorfo y las variaciones de frecuencia de los loci Odh y Pgh no contribuyeron a la diferenciación de poblaciones. Sin embargo, las diferencias fueron solamente encontradas en las

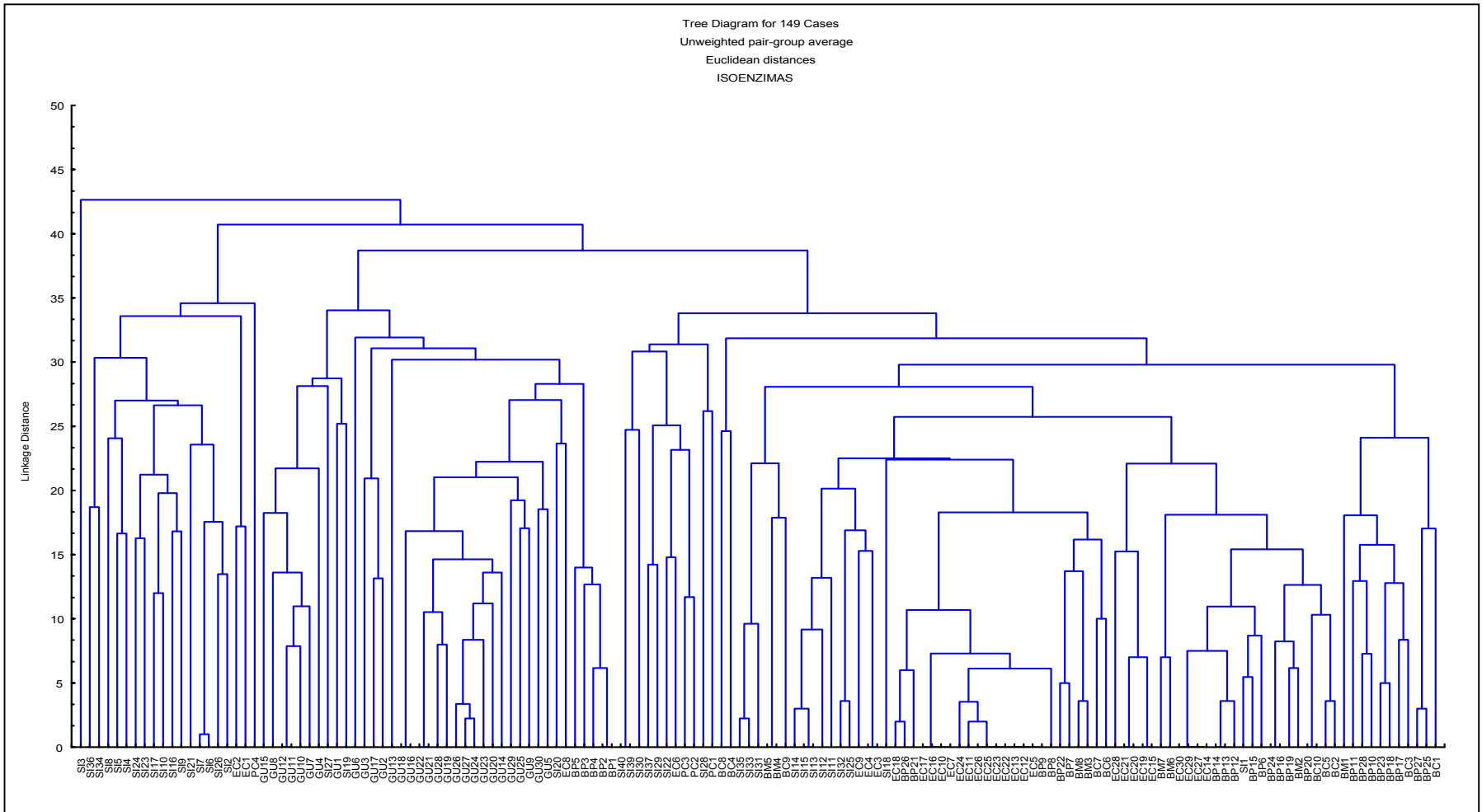


Figura 2. Fenograma generado al realizar el análisis de conglomerados (CLUSTER) de todos los individuos analizados de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*), en base a la actividad enzimática. BM = Bahía Magdalena; BP = Bahía de La Paz; BC = Bahía Concepción; EC = Ecuador; GU = Guaymas; PC = Plataforma continental; SI = San Ignacio.

Tabla 1. Enzimas seleccionadas para el presente estudio y sus sistemas de tinción.

Enzima	Abreviatura	Número EC	Número de loci separados	Sistema de Tinción <sup>a</sup>
Superóxido dismutasa	SOD	1.15.1.1	1	NBT/riboflavin
Esterasa	EST	3.1.1.3	4	Naphtyl acetate/Fast Blue RR
Fosfoglucomutasa	FGM	5.4.2.2.	1	G1P/G6PDH/ MTT
Fosfatasa alcalina	ALP	3.1.3.1	2	AMP/phenol red
Lactato deshidrogenasa	LDH	1.1.1.27	2	Lactate/NAD/NBT
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	G6PDH	1.1.1.49	1	G6P/NADP/MTT

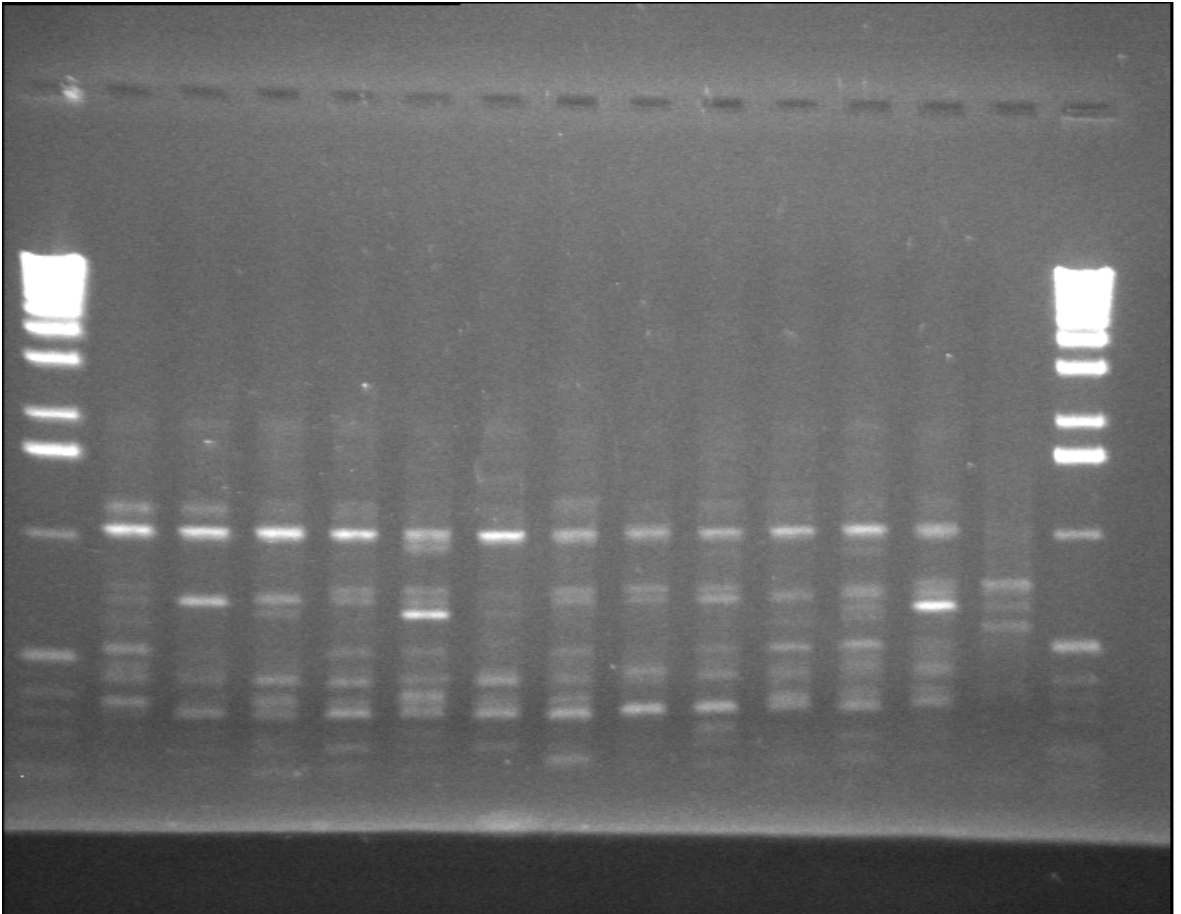
<sup>a</sup> Manchenko (1994).

Estas enzimas se seleccionaron por ser las mas frecuentemente usadas en estudios poblacionales en moluscos por otros autores.

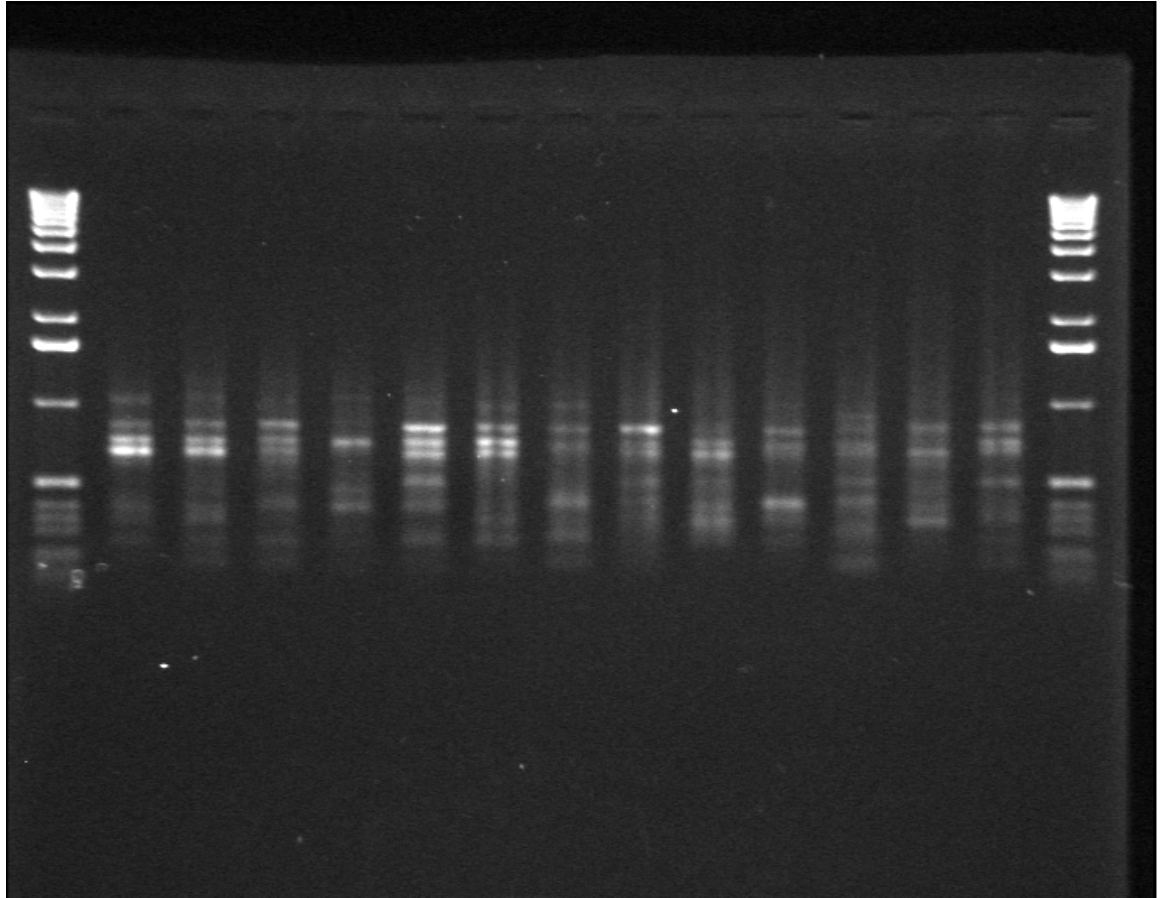
Una vez teñidos, los geles se secaron durante 24 horas en medio de dos hojas de papel celofan. Posteriormente, se observaron los geles sobre un transiluminador de luz visible, se determino el número y posición de las bandas presentes (alelos), y se les asignó un número y una letra a cada una de ellas. Posteriormente, la base de datos de enzimas, fue analizada mediante el programa Statistica para Windows, aplicando un análisis de conglomerados donde se utilizó el "Unweighted Pair-Group Avergae" (UPGA) como regla de amalgamamiento y la distancia Euclidiana como unidad de ligamiento.

#### ASLAMIENTO DE ADN GENÓMICO.

Las secciones de tejido de músculo aductor se digirieron con un pronasa a 45°C en un baño María, durante dos horas, agitando en vortex cada media hora. Posteriormente se realizaron dos extracciones consecutivas con cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), para posteriormente precipitar el sobrenadante con 2 volúmenes de etanol absoluto. Después de rehidratar los pellets y someterlos a un tratamiento con ARNasa, se volvieron a realizar dos extracciones consecutivas con cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y posteriormente se logró su precipitación con dos volúmenes de etanol absoluto. El pellet obtenido se lavó dos veces con etanol al 70 %, para finalmente resuspenderlo en buffer TE. Se determino la concentración y pureza del ADN mediante análisis espectrofotométrico a 260/280 nm segun el método de Warburg-Christian (1952), tomando como referencia 260/280 = 1.8 como valor para un ADN puro. Valores superiores a éste, sugirieron la presencia de ARN, y los inferiores, la presencia de proteínas. Adicionalmente, se realizó un análisis del ADN mediante electroforesis en geles de agarosa al 0.8%/ TBE a cada preparación. La electroforesis se llevo a cabo a temperatura ambiente y a un voltaje constante de 70 V. Los geles resultantes fueron preteñidos con EtRr y posteriormente fueron analizados bajo luz ultravioleta en un transiluminador. Finalmente, éstos se fotografiaron digitalmente mediante un sistema de fotodocumentación UVITEC.



**Figura 3. Patrones electroforéticos de un gel obtenido con la técnica de RAPDS, al utilizar el oligo 28 como “primer”.**



**Figura 4. Patrones electroforéticos de un gel obtenido con la técnica de RAPDS, al utilizar el oligo 30 como “primer”.**



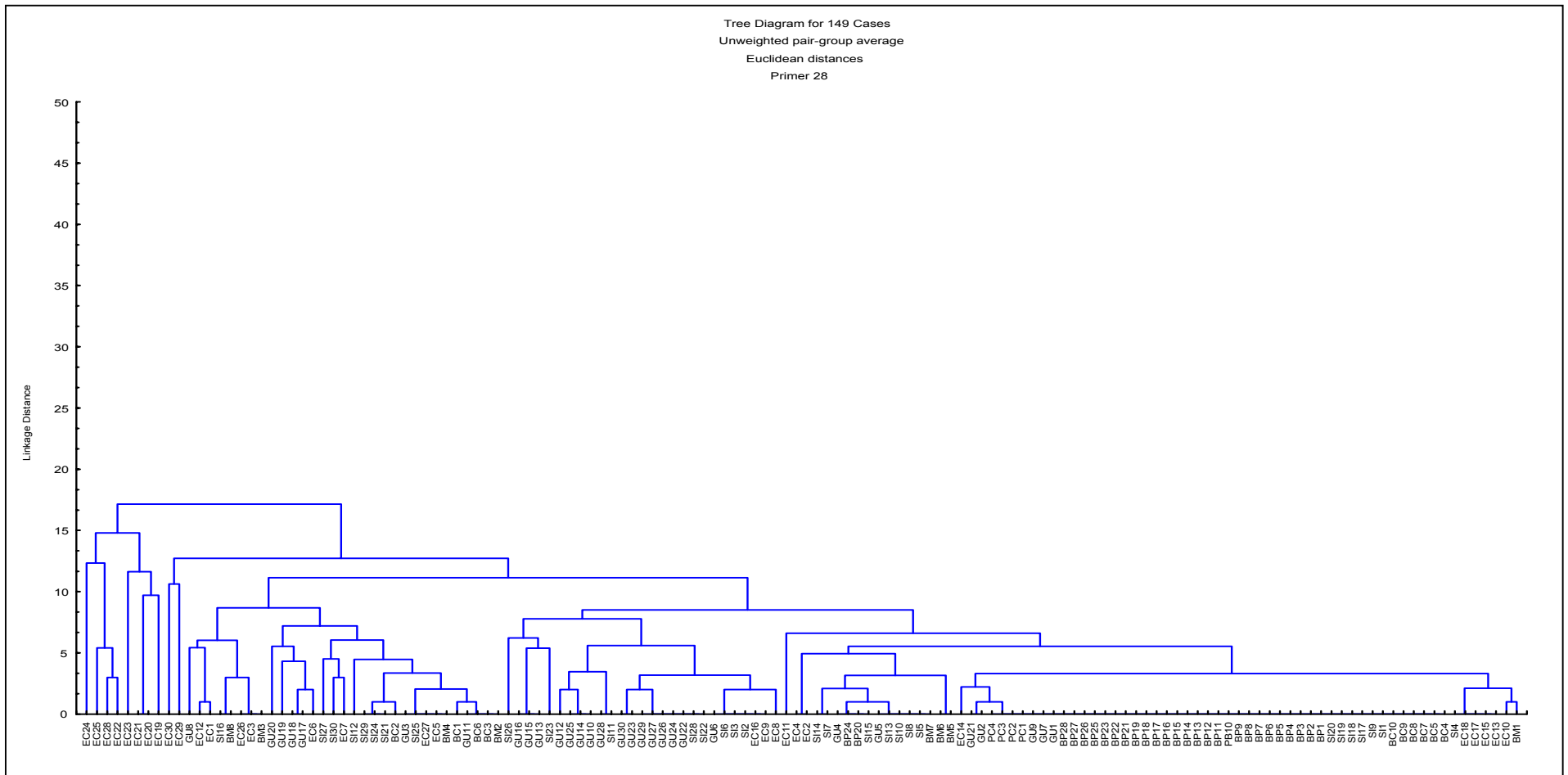


Figura 5. Fenograma generado al realizar el análisis de conglomerados (CLUSTER) de todos los individuos de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) analizados, utilizando como “primer” el oligo 28 con la técnica de RAPDS. BM = Bahía Magdalena; BP = Bahía de La Paz; BC = Bahía Concepción; EC = Ecuador; GU = Guaymas; PC = Plataforma continental; SI = San Ignacio.

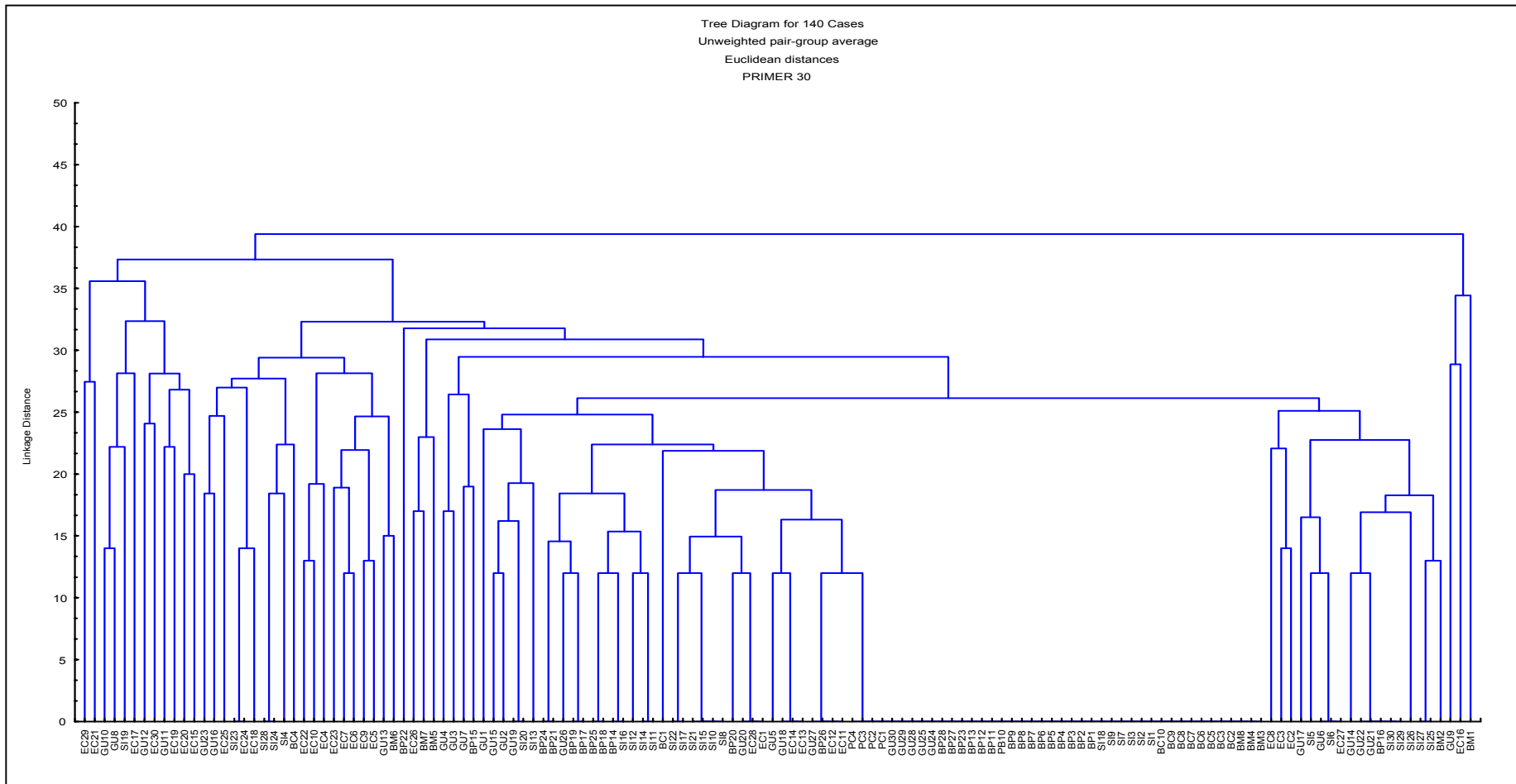


Figura 6. Fenograma generado al realizar el análisis de conglomerados (CLUSTER) de todos los individuos de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) analizados, utilizando como primer el oligo 30 con la técnica de RAPDS. BM = Bahía Magdalena; BP = Bahía de La Paz; BC = Bahía Concepción; EC = Ecuador; GU = Guaymas; PC = Plataforma continental; SI = San Ignacio.

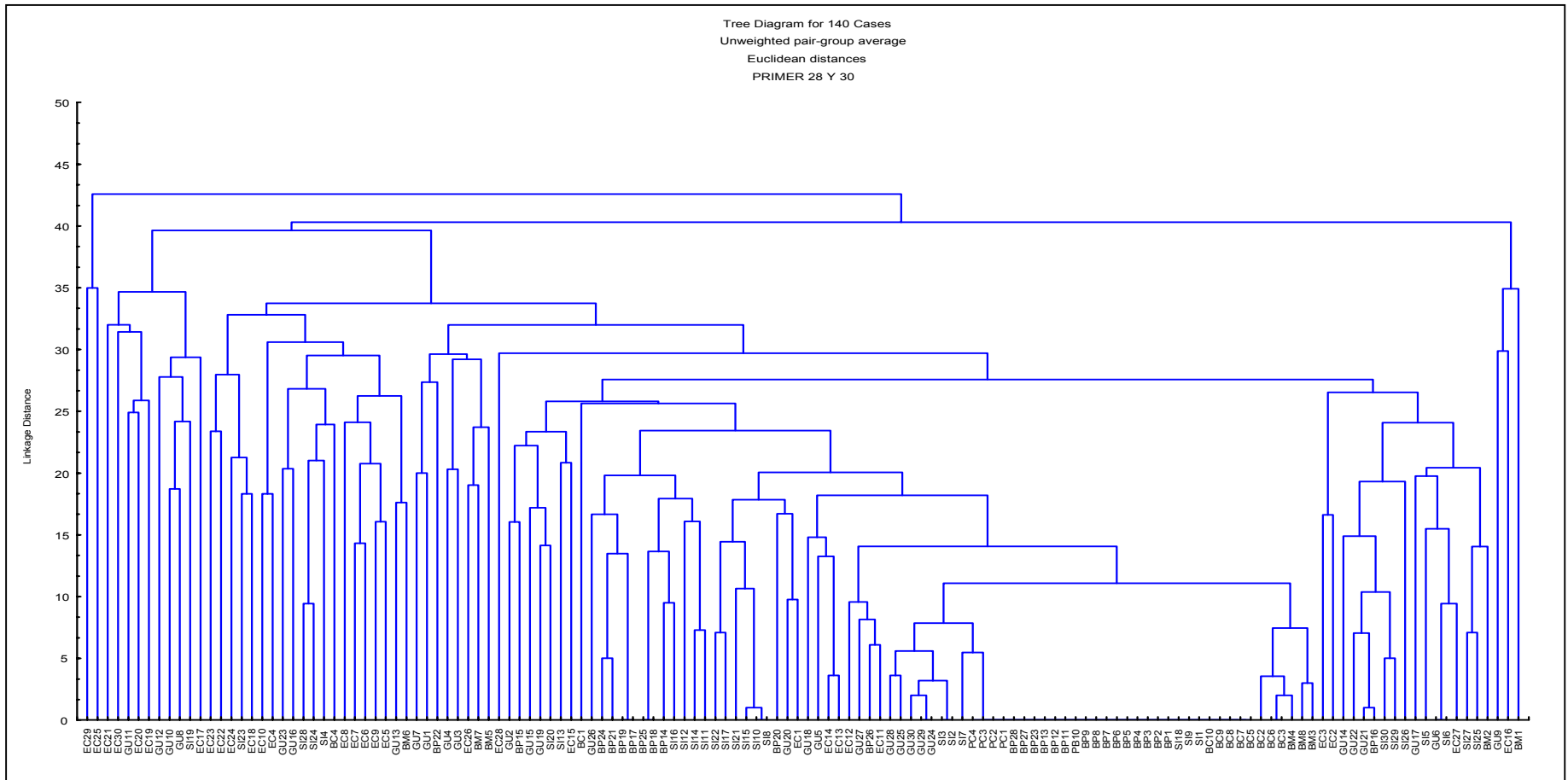


Figura 7. Fenograma generado al realizar el análisis de Conglomerados (CLUSTER) de todos los individuos de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) analizados, utilizando como primers los oligos 28 y 30 con la técnica de RAPDS. BM = Bahía Magdalena; BP = Bahía de La Paz; BC = Bahía Concepción; EC = Ecuador; GU = Guayas; PC = Plataforma continental; SI = San Ignacio.

frecuencias de tres alelos en el locus proteico Pt-A. El alelo Pt-A<sup>3</sup> fue el mas frecuente en el mar de Irlanda y en algunas poblaciones del canal de la Mancha. Pt-A<sup>2</sup> fue el mas comun en el norte, y el locus Pt-A<sup>1</sup> en la costa oeste de Francia e Irlanda. Sin embargo en *Pecten maximus* que se distribuye en la misma región que *C. opercularis*, no se encontró diferenciación genética en muestras colectadas a lo largo de Escocia, Irlanda y Bretaña , usando 9 loci polimorficos (Huelvan, 1985). Esto ilustra uno de los problemas inherentes a los estudios de genética poblacional. *P. maximus* y *C. opercularis* tienen una vida larval pelágica y hábitats similares en la fase adulta y en consecuencia se esperaría que *P. maximus* estuviese también aislada geográficamente. Por lo tanto, el no haber podido demostrar la diferenciación poblacional en los loci probados, no demuestra que las poblaciones no están aisladas. La inclusión al azar de solamente un locus, como Pt-A en *C. opercularis*, donde la diferenciación poblacional es evidente, modificará inmediatamente las conclusiones. Por lo tanto, es necesario obtener mas datos para tener resultados concluyentes.

La única evidencia de que existan poblaciones separadas de almeja catarina se encuentra en un estudio comparativo de crecimiento y supervivencia de esta especie producida en el laboratorio, a partir de progenitores de Bahía Magdalena (costa del Pacífico), Bahía Concepción (Golfo de California) y de sus cruzas recíprocas (Cruz, 1997). Este autor, demostró que las almejas de progenitores de Bahía Concepción y de las cruzas recíprocas, tuvieron el mismo crecimiento y supervivencia que las de progenitores de Bahía Magdalena cuando se cultivaron en ese sitio. Sin embargo, el crecimiento y la supervivencia de almejas cultivadas en Bahía Concepción de progenitores de Bahía Magdalena y las cruzas recíprocas, fueron significativamente menores a los registrados en almejas de progenitores de Bahía Concepción, lo cual indica que existen diferencias en la termotolerancia de ambas poblaciones debido posiblemente a factores heredados.

Con estos antecedentes, sería conveniente probar en la almeja catarina, el mayor número de enzimas posible incluyendo la Pt-A y/o emplear otra metodología mas específica como sería la secuenciación de ADN.

Con los resultados anteriores no resulta conveniente emitir alguna recomendación sobre el manejo de la especie en Bahía Magdalena, toda vez que no fue posible demostrar su cercanía filogenética con las poblaciones de la Plataforma Continental.

## CONCLUSIONES.

- 1.- Existe una gran variabilidad genética entre individuos de almeja catarina provenientes de las distintas poblaciones de almeja catarina distribuidas desde el Pacífico de Baja California hasta Ecuador.
- 2.- Los individuos de almeja catarina de Guaymas y La Paz fueron los únicos ejemplares que al parecer están agrupados en una población genéticamente distinta.
- 3.- Con el marco de referencia planteado en este estudio, no es posible recomendar acciones de administración de la pesquería de almeja catarina en Bahía Magdalena, dado que no fue posible demostrar la cercanía filogenética entre poblaciones de esta Bahía con las de la Plataforma Continental.

## REFERENCIAS

Beaumont, A.R., 1982, Geographic variation in allele frequencies at three loci in *Chlamys opercularis* from Norway to the Brittany coast. *J.Mar. Biol. Ass. UK.*, 62: 243-261

Cruz-Hernandez, P., 1997. Análisis comparativo del crecimiento y supervivencia de dos poblaciones de almeja catarina *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842) y sus cruzas recíprocas en Baja California Sur. Tesis de Maestría, CICIMAR, IPN, Mex. 85 pp.

Davis, (1964)

Huelvan, S., 1985. Variabilité génétique de populations de *Pecten maximus* L. En Bretagne. Thèse du Doctorat de 3<sup>ème</sup> Cycle Université de Bretagne Occidentale, Brest, France. 196pp.

Keen, M., 1971. Sea shells of tropical west America. 2nd. ed. Stanford University Press. Stanford, California, 1064 pp.

Koehn, R.K., Hall, J.G., Innes, D.J. y Zera, A.J., 1984. Genetic differentiation of *Mytilus edulis* in eastern North America. *Marine Biology*, 79:117-126.

Lowry (1951),

Maeda-Martínez, A.N., Reynoso, T., Solís, F., Leija, A., Aurióles, D., Lluch, D., Salinas, C., Ormart, P. y Félix, E., 1993. A model to explain the formation of

catarina scallop (*Argopecten circularis*) beds in Magdalena Bay, Mexico. *Aquac. & Fish. Management*. 24, 323-339.

Manchenko, G.P. 1994. Handbook of detection of enzymes on electrophoretic gels. CRC Press Boca Raton, FL., 341pp

Mathers, N.F., 1975. Environmental variability at the phosphoglucose isomerase locus in the genus *Chlamys*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 3: 123-127.

Ríos, C., Sanz, S. y Peña, J.B., 1999. Genetic relationships between populations of *Pecten jacobaeus* and *Pecten maximus*. 12th International Pectinid Workshop. 5-11 May 1999, bergen Norway. (Abstract) 1pp.

Skibinsky, D.O.F., Beardmore, J.A. y Ahmad, M., 1978. Genetic aids to the study of closely related taxa of the genus *Mytilus*. In: Battaglia, B. and Beardmore, J.A. (Editors), *Marine Organisms, Genetics, Ecology and Evolution*, Plenum Press, New York, 469-486.

Varvio, S.L., Koehn, R.K., y Väinölä, R., 1988. Evolutionary genetics of the *Mytilus edulis* complex in the North Atlantic region. *Mar. Biol.*, 98: 51-60.

Warburg-Christian (1952).

## **AGRADECIMIENTOS:**

Los autores de este trabajo agradecen al Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM-ESPOL) de Ecuador, y en particular al Acuic. Pablo Lombeida por la donación de las muestras de almeja catarina provenientes de Guayaquil Ecuador.