

UNIVERSIDAD DEL MAR



Análisis de RAPDs en tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*, Eschscholtz, 1829) orientado a la identificación de variación alélica

Tesis de Licenciatura en Biología Marina

Presentada por

Santiago Ramos Carreño

Puerto Ángel, Oaxaca, México

Septiembre de 2004

Dedicatoria

A mis padres...

Hermanos y

mi amigo Stuart L.

Agradecimientos

Al Dr. Rolando Cárdena López, por sus valiosas enseñanzas que contribuyeron a mi desarrollo profesional, y a su apoyo durante la dirección de esta tesis.

A la M. C. Samantha G. Karam M., por su contribución en el laboratorio y las sugerencias en la revisión de esta tesis.

Al Biol. Adrián Ramírez G., por su asistencia en el laboratorio.

A los revisores:

M. C. Perla M. Martínez Cruz

M. C. Alberto Montoya M.

H. Juan Meraz H

Por sus sugerencias al escrito final.

Reconocimiento

Esta tesis se realizó con financiamiento del Programa para el Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), a través del proyecto UMAR-PTC-7 dirigido por el Dr. Rolando Cárdena López.

10519



***La problemática de la genética de poblaciones
es la descripción y explicación de la variación
genética dentro y entre poblaciones.***

Theodosius Dobzhansky

1900 - 1975

Contenido

	Página
Lista de Tablas	ii
Lista de Figuras	iii
Resumen	iv
Abstract	v
1 Introducción	1
1.1. Biología de la tortuga golfinia	3
1.1.1 Distribución geográfica	3
1.1.2 Morfología	3
1.1.3 Reproducción	4
1.2 Problemática de las tortugas marinas	5
1.3 Conservación de tortugas marinas en México	6
1.4 Los marcadores genéticos	8
1.4.1 Marcadores dominantes y codominantes	9
1.5 Los marcadores moleculares	11
1.5.1 Clasificación	12
1.5.2 Ventajas y desventajas de los tipos principales	14
1.5.3 ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD)	16
1.6 Marcadores genéticos usados en tortugas marinas	22
2 Justificación	26
3 Hipótesis	27
4 Objetivos	28
4.1 General	28
4.2 Específicos	28
5 Materiales y métodos	29
5.1 Área de estudio	29
5.2 Material biológico	30
5.3 Extracción de ADN	30
5.4 Amplificación de RAPDs	30
5.5 Electroforesis y visualización de ADN	31
5.6 Selección de RAPDs de interés	31
5.7 Análisis estadístico	32
6 Resultados y discusiones	34
7 Conclusiones	45
8 Referencias	46
Anexo 1	53
Anexo 2	54

Lista de Tablas

	Página
Tabla 1 Secuencias nucleotídicas de los iniciadores usados, y número de fragmentos amplificados.	35
Tabla 2 Apareamientos propuestos para explicar el polimorfismo observado con AL17.	39
Tabla 3 Valores observados y esperados para los posibles casos de variación alélica generados con el iniciador AL17.	39
Tabla 4 Hipótesis genética propuesta para la variación observada con el iniciador AL03.	41
Tabla 5 valores observados y esperados para los genotipos descritos en la tabla 4.	41

Resumen

La tortuga golfinia (*Lepidochelys olivacea*) es una especie presente en los ecosistemas marinos del Pacífico mexicano. Su sobreexplotación llegó a causar una drástica disminución de sus poblaciones, lo cual llevó a catalogarla en México como una especie en peligro de extinción. El adecuado conocimiento de su diversidad genética es un elemento importante para el éxito de programas encaminados a su conservación, y en este contexto el uso de marcadores moleculares ha mostrado ser de gran utilidad. El ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD) es un sistema de marcadores moleculares cuya simplicidad técnica lo ha convertido en una herramienta ampliamente usada en estudios de diversidad genética. Se le ha considerado un sistema de marcadores primordialmente de tipo dominante, por lo cual su empleo en análisis de estructura genética ha sido limitado. Sin embargo, algunas estrategias como la detección de ADN heterodúplex, han mostrado que el análisis de RAPDs puede revelar un porcentaje considerable de marcadores codominantes. En tortugas golfinas, el uso de estos marcadores no ha sido reportado. El objetivo de este trabajo fue emplear análisis de RAPDs en tortugas golfinas, empleando estrategias encaminadas a identificar polimorfismos potencialmente codominantes. Con este fin, una familia integrada por una madre y 20 progenies se analizó con 20 iniciadores. Seis de los iniciadores produjeron bandas muy tenues o no detectables, 11 revelaron patrones de bandas monomórficas, y tres revelaron patrones de bandeo polimórficos. De estos patrones, los generados por AL03 y AL17 fueron reproducibles y se pudieron interpretar como generados por loci dialélicos. AL03 reveló dos fragmentos, AL03₉₃₇ y AL03₈₈₂ que cubrieron los criterios propuestos para considerarlos como marcadores codominantes. El nivel de polimorfismo detectado en este estudio fue del 3.0 %, y semejante al reportado para tortugas dulceacuícolas. En conjunto, los análisis realizados fueron útiles para identificar marcadores potencialmente codominantes en tortugas golfinas mediante análisis de RAPDs.

Palabras clave: Tortuga golfinia, *Lepidochelys olivacea*, RAPD, marcadores codominantes, ADN heterodúplex.