



UNIVERSIDAD DEL MAR

Campus Puerto Ángel, Oaxaca.

Estructura genética del dorado (*Coryphaena hippurus* Linnaeus, 1978) en el Pacífico mexicano, inferida mediante marcadores de ADN nuclear.

Que para obtener el título de
Licenciado en Biología Marina.

Presenta

Alberto Rosales Morales

Director de tesis

Dr. Rolando Cardeña López.

Puerto Ángel, diciembre 2007

INDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Biología del Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>).....	1
1.1.1 Taxonomía y morfología.....	1
1.1.2 Distribución y abundancia.....	2
1.1.3 Crecimiento y reproducción.....	3
1.1.4 Alimentación.....	3
1.2 Importancia Ecológica.....	4
1.3 Importancia Económica.....	4
1.4 Estrategias de Manejo.....	5
1.5 Variación Genética.....	6
1.5.1 Fuentes de variación.....	6
1.5.2 Niveles de estudio de la variación genética.....	9
1.6 Técnicas para Identificar Variación Genética.....	9
1.6.1 Marcadores bioquímicos.....	9
1.6.2 Marcadores moleculares.....	10
1.7 Medidas de Variación Genética.....	12
2. ANTECEDENTES	13
2.1 Estudios Genéticos que Involucran al Dorado.....	13
2.1.1 Genoma mitocondrial.....	13
2.1.2 Genoma nuclear.....	14
2.2 Variación Genética en el Gen de la Hormona de Crecimiento.....	16
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. HIPÓTESIS	20
5. OBJETIVOS	21
5.1 Objetivo General.....	21
5.2 Objetivos Particulares.....	21
6. ÁREA DE ESTUDIO	22
7. MATERIAL Y MÉTODOS	24
7.1 Material Biológico.....	24
7.2 Extracción de ADN.....	24
7.3 Diseño de Oligonucleótidos.....	25
7.4 Amplificación de ADN.....	26
7.5 Electroforesis y Visualización de ADN.....	26
7.6 Análisis Estadísticos.....	27
7.6.1 Estimación del tamaño de bandas.....	27
7.6.2 Análisis de estructura poblacional.....	27

8. RESULTADOS Y DISCUSIONES	32
8.1 Selección del Método de Extracción de ADN.....	32
8.2 Selección de Iniciadores.....	34
8.3 Caracterización del Polimorfismo.....	38
8.3.1 <i>Locus I</i>	38
8.3.2 <i>Locus II</i>	40
8.4 Análisis de la Estructura Genética Poblacional.....	42
9. CONCLUSIONES	48
10. SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES	49
11. LITERATURA CITADA	50

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla I.- Agrupaciones de datos consideradas en el análisis de estructura.....	31
Tabla II.- Cantidad de muestras y extractos de ADN obtenidos por localidad.....	32
Tabla III.- Oligonucleótidos diseñados para amplificar los <i>loci</i> de interés.	35
Tabla IV.- Análisis de equilibrio Hardy-Weinberg para el <i>locus I</i>	40
Tabla V.- Análisis de equilibrio Hardy-Weinberg para el <i>locus II</i>	41
Tabla VI.- Índices de fijación para los diferentes pares de grupos geográficos.	43
Tabla VII.- Valores de <i>P</i> para los índices de fijación calculados.	44
Tabla VIII.- Matriz de distancias genéticas de Reynolds, para los diferentes pares de grupos geográficos.....	44

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Ejemplares de dorado. A, macho; B, hembra.	2
Figura 2.- Área de estudio.....	23
Figura 3.- Extractos de ADN total obtenidos por los métodos A, B y C, a partir de un grupo de cuatro muestras de aleta y una de tejido muscular.	32
Figura 4.- Extracción de ADN a partir de tejido sanguíneo (A) y muscular (B), en tres individuos diferentes.	33
Figura 5.- Secuencia del exón II para <i>C. hippurus</i> y <i>S. aurata</i>	34
Figura 6.- Tamaños relativos de los amplicones esperados (B) y observados (A), para el intrón I.	36
Figura 7.- Tamaños relativos de los amplicones esperados (B) y observados (A), para el intrón III.	36
Figura 8.- Amplicones generados con tres individuos para los intrones I (A) y III (B), y para la región que incluye a ambos intrones (C).....	38
Figura 9.- Productos de amplificación del <i>locus I</i>	38
Figura 10.- Frecuencias observadas para los alelos del <i>locus I</i> en los grupos geográficos analizados.....	39
Figura 11.- Productos de amplificación del <i>locus II</i>	40
Figura 12.- Individuos analizados con el fin de asignar genotipos para el <i>locus II</i>	41
Figura 13.- Frecuencias estimadas para los alelos del <i>locus II</i> en cada grupo geográfico..	42
Figura 14.-Estructura genética de los grupos geográficos estudiados.	45

RESUMEN

El dorado es una especie de importancia ecológica y pesquera, a nivel internacional, nacional y regional. Debido a la problemática en cuanto a su explotación se refiere y al poco conocimiento de su estructura genética, ha despertado el interés de distintos grupos de investigación a lo largo de las dos últimas décadas. El conocimiento sobre el genoma de esta especie es muy limitado, no obstante se tiene información sobre la secuencia de algunos de sus genes, como el de la hormona de crecimiento. Distintas regiones de este gen, sobre todo sus intrones I y III, han mostrado ser polimórficas en distintas especies de peces. Esta tesis tuvo como objetivo detectar variación en este gen, y emplear dicha variación para definir la estructura genética del dorado en el Pacífico tropical mexicano. El análisis del gen se abordó mediante su amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa. Los iniciadores diseñados para este fin permitieron la amplificación del gen, y de una región genómica anónima adicional. Ambos *loci* mostraron ser polimórficos, observándose dos alelos en el gen de la hormona de crecimiento y seis en el *locus* anónimo. El uso de esta variación en los análisis de estructura genética mostró que sí hay clados diferenciados ($P < 0.05$) dentro del área de estudio. Puerto Madero y Salina Cruz quedaron como miembros únicos de un clado bien diferenciado. El grupo más alejado de este clado corresponde al Norte del Pacífico mexicano. Puerto Ángel, a pesar de representar localidades geográficamente cercanas a las de Puerto Madero y Salina Cruz, aparece como un grupo genéticamente más cercano al del Norte del Pacífico mexicano. Esto sugiere una relación entre las distancias geográficas y las distancias genéticas. En conjunto, los resultados del análisis de estructura genética sugieren que las capturas de dorado en el Pacífico mexicano están incidiendo sobre al menos dos stocks que podrían tener como zona de transición al Golfo de Tehuantepec.

Palabras clave: *Coryphaena hippurus*, hormona de crecimiento, polimorfismo, estructura genética, stock, Pacífico mexicano.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Biología del Dorado.

1.1.1. Taxonomía y morfología.

La diversificación del orden Perciformes comenzó en el Cretácico, teniendo su apogeo durante el Paleoceno (Carroll y Choat, 1988 y Belwood, 1991, en Hobson, 2006), y del que derivó el suborden Percoidei, que surgió a partir de los Beryciformes, durante el Eoceno, hace aproximadamente 55 millones de años (Patterson, 1983 en Hobson, 2006), este suborden está integrado por múltiples familias incluyendo a la Coryphaenidae. Esta familia está integrada por un solo género, *Coryphaena*, y por dos especies, *C. equiselis* (Linnaeus, 1758) y *C. hippurus* (Linnaeus, 1758). Esta última se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera (Linnaeus, 1758).

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Osteichthyes

Subclase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Suborden: Percoidei

Familia: Coryphaenidae

Genero: *Coryphaena*

Especie: *Coryphaena hippurus*

Las dos especies del género *Coryphaena* presentan una coloración dorada en la parte lateral, azul y verde metálico en la parte dorsal y lateral, blanca y amarilla en la parte ventral. En este género existe dimorfismo sexual, los machos se distinguen por presentar una cabeza más prominente (Figura 1). Existen características morfológicas que permiten diferenciar a las dos especies. El *C. hippurus* en etapa

adulta presenta una profundidad corporal menor al 25% de la longitud estándar, 58 a 66 radios dorsales, 25 a 31 radios anales, 31 vértebras, los dientes localizados en la lengua son pequeños y ovalados. El *C. equiselis* tiene una profundidad corporal mayor al 25% de su longitud estándar, 52 a 59 radios dorsales, 25 a 31 radios anales, 33 vértebras, los dientes localizados en la lengua son amplios y cuadrados (Palko *et al.*, 1982).



Figura 1.- Ejemplares de dorado (*C. hippurus*). A, macho; B, hembra.

1.1.2. Distribución y abundancia.

El dorado es residente de aproximadamente el 30% de los océanos y de manera estacional de otro 15% (Norton, 1999), esto debido a que es una especie oceánica presente en zonas tropicales y subtropicales, restringida aparentemente a la isoterma de los 20°C (Gibbs y Collette, 1959 en Oxenford, 1999). También se ha encontrado que la salinidad es un factor importante en la distribución y abundancia de estos organismos, ya que se ha observado que a bajas concentraciones de salinidad hay un aumento en su densidad (reflejado en una mayor captura) (Norton, 1999).

El dorado se distribuye en aguas del Atlántico, Pacífico, y el Océano Índico (Briggs, 1960; Berdsley, 1967; Rose y Hassler, 1968; Jonson, 1978 en Castro *et al.*, 1999). La distribución de este organismo en México ocurre tanto en aguas del Golfo de México (Bentivoglio, 1988 en Mahon y Oxenford, 1999; Oxenford, 1999) como en las del Pacífico (Madrid y Beltrán-Pimienta, 2001; Norton, 1999; Santana-Hernández, 2001; Zúñiga, 2002).

En el Pacífico mexicano, la abundancia del dorado varía según la temperatura superficial del mar, encontrándose la mayor abundancia en el intervalo de 27 a 32°C, durante los meses de abril a septiembre. Las zonas donde existe mayor abundancia se encuentran frente a las costas de Oaxaca y Chiapas, ya que en esta zona predominan las aguas cálidas durante la mayor parte del año (Santana-Hernández, 2001).

1.1.3. Crecimiento y reproducción.

Para el dorado se ha reportado un crecimiento por día de hasta 3,91 mm de longitud furcal (FL) durante el primer año de vida (Precod y Hunte, 1997 en Oxenford, 1999). El crecimiento en esta especie es diferencial, ya que los machos crecen a una tasa más elevada (Castro *et al.*, 1999; Rivera y Appeldoorn, 2000), encontrándose organismos de hasta 236,10 cm de FL (Murray, 1985 en Oxenford, 1999).

La talla de primera madurez sexual en hembras es de aproximadamente 35,00 cm y en machos de 42,70 cm, sin embargo la edad aproximada de primera madurez es de seis a siete meses en ambos sexos (Beardsley, 1967 en Oxenford, 1999). La fecundidad de las hembras en esta especie varía de 58,000 a 1,5 millones de huevos, esta variación está en función del tamaño del organismo (Oxenford, 1999).

1.1.4. Alimentación.

La mayoría de los estudios de contenido estomacal en dorado, han mostrado que esta especie se alimenta de una amplia variedad de peces e invertebrados (Oxenford, 1999).

Estudios realizados en el Pacífico este muestran que la dieta del dorado está integrada principalmente por peces voladores (35%), cefalópodos epipelágicos (24%), en menor grado especies pertenecientes a la familia Gempylidae, y peces del genero *Auxiss ssp.* (Olson y Galván-Magaña, 2002).

Oxenford y Hunte (1999) señalan que la variación en la dieta del dorado puede deberse a múltiples factores como el tamaño, sexo, y la estación del año.

1.2. Importancia Ecológica.

El dorado es un organismo considerado altamente migratorio, sin embargo se ha observado que las hembras y juveniles de la especie tienden a habitar áreas costeras y a asociarse a objetos flotantes (Oxenford y Hunte, 1999). Por su naturaleza migratoria es considerado como depredador tope, por lo tanto se ubica dentro del nivel más alto de la cadena trófica (Ciannelli *et al.*, 2005), como consecuencia esta involucrada en el mantenimiento y estabilidad de la cadena alimenticia (Kitchell *et al.*, 2002), ya que permite la coexistencia de las especies presa mediante el control del número de individuos por debajo del nivel al cual competirían por alimento y espacio. Los peces altamente migratorios como el dorado son productores y redistribuidores de biomasa y energía a distintos ecosistemas a través de la cadena alimenticia, debido a sus migraciones y movimientos de un área a otra y de un sistema a otro (Laevastu *et al.*, 1996; Allen *et al.*, 2005; Øystein *et al.*, 2005).

1.3. Importancia Económica.

El dorado es una especie económicamente importante ya que se explota en la pesca artesanal y deportiva, en sus distintos sitios de distribución: oeste del Atlántico central (Oxenford, 1999), oeste del Pacífico (Sakamoto y Kojima, 1999), costa de Panamá y Colombia, Pacífico centro-este (Lasso y Zapata, 1999), y en México, Golfo de México (Mahon, 1999), y costa del Pacífico, tanto en su zona norte (Ortega y Beltrán, 2003) como sur. Las características que convierten a esta especie en un blanco atractivo para su explotación incluyen una elevada tasa de conversión alimenticia, elevada tasa de crecimiento, alta fecundidad, alto precio en el mercado, alta demanda y baja captura por unidad de esfuerzo (Kraul, 1999). Lo anterior también permite considerarlo como una especie con gran potencial en la industria acuícola. La pesca de esta especie en México está reservada a la pesca deportiva. Debido a esto existen conflictos entre los que se dedican a la pesca artesanal y deportiva de esta especie. Estos últimos apoyados por organizaciones ambientalistas