

UNIVERSIDAD DEL MAR



“ANÁLISIS SISTEMÁTICO DE LA TORTUGA CAREY (*Eretmochelys imbricata*) DEL PACÍFICO MEXICANO CON BASE EN LA SECUENCIACIÓN DE LA REGIÓN CONTROL DEL ADN MITOCONDRIAL”

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL
TÍTULO DE

BIÓLOGA MARINA

PRESENTA:

TANIA ZÚÑIGA MARROQUÍN

DIRECTOR DE TESIS:
BIÓL. SAMANTHA G. KARAM MARTINEZ

Puerto Ángel, Oaxaca, México.

Marzo del 2002



CON TODO MI AMOR

A MIS PADRES:

IRMA Y MARCO ANTONIO

MIS HERMANAS:

CITLALLY Y ERIKA

A FELIPE

Y A SILVANA,

LA LUZ DE MI MAÑANA

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas esas personas que me acompañaron y apoyaron durante esta periodo de mis estudios, pero quiero dedicar este espacio especialmente a:

- ❖ Mis padres y hermanas por todo su amor, comprensión y apoyo incondicional, a larga distancia, desde el inicio de mis estudios hasta el presente.

- ❖ Mis abuelas, tíos y primos que siempre han mostrado interés en mi trabajo y me han alentado a salir adelante.

- ❖ Felipe por todo su apoyo, sus consejos y porras en los momentos difíciles.

- ❖ A todos los amigos de la UMAR, entre ellos los UNIDO por cinco años de convivencia en el salón de clases, con risas y discusiones. Los vecinos Bugambilios y agregados culturales por las comidas comunitarias y veladas acampando. Especialmente a Lety y Marisol por su valiosa amistad de estos años.

- ❖ Samy por dirigirme en este trabajo, pero sobretodo guiarme en mis inicios como tortuguera y en la genética molecular.

- ❖ Dr. Alberto Abreu por su codirección en esta tesis, su confianza y paciencia en mi aprendizaje dentro del laboratorio.

- ❖ Nina y María de los Ángeles del laboratorio del ICMYL de Mazatlán por sus consejos en los menesteres del laboratorio, su ayuda en el procesamiento de las muestras y por hacer grata y divertida mi estancia en el laboratorio.

- ❖ Las instituciones: UMAR por las facilidades en los inicios de mi tesis y durante mis estudios; CONACYT por el apoyo financiero por medio del proyecto UNAM-CONACYT -28087N dirigido por el Dr. Abreu "Filegeografía de las colonias anidadoras de tortuga carey, *Eretmochelys imbricata*, en la península de Yucatán, México".

INDICE	
LISTA DE TABLAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
<u>RESUMEN</u>	1
<u>INTRODUCCIÓN</u>	2
<u>¿Especies o subespecies?</u>	8
<u>Tortuga carey, <i>Eretmochelys imbricata</i></u>	12
<u>ADN Mitocondrial (mtDNA)</u>	17
<u>Antecedentes</u>	20
<u>Implicaciones en el manejo y la conservación</u>	10
<u>OBJETIVOS</u>	24
<u>General</u>	24
<u>Particulares</u>	24
<u>HIPÓTESIS</u>	25
<u>MÉTODO</u>	26
<u>Muestreo</u>	26
<u>Preservación y almacenamiento de las muestras</u>	26
<u>Procesamiento de muestras</u>	27
<u>Análisis de resultados</u>	30
<u>RESULTADOS</u>	33
<u>Polimorfismo</u>	33
<u>Diferenciación entre cuencas y asignación de rango taxonómico</u>	33
<u>Tiempo de divergencia</u>	40
<u>Árbol de genes</u>	40
<u>DISCUSION</u>	45
<u>Polimorfismo</u>	45
<u>Diferenciación entre cuencas y asignación de rango taxonómico.</u>	47
<u>¿Especies o subespecies?</u>	50
<u>Implicaciones en el manejo y la conservación</u>	51
<u>Tiempo de divergencia</u>	52
<u>Árbol de genes</u>	54
<u>CONCLUSIONES</u>	56
<u>LITERATURA CITADA.</u>	58
<u>ANEXO 1.</u>	68

LISTA DE TABLAS

1. Taxonomía reciente de las tortugas marinas.....6
2. Diferencias morfológicas entre subespecies de tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*).....16
3. Protocolo para la amplificación (PCR) de la región control del mtDNA de tortuga carey para los cebadores LTEi3 y HDEi1.....29
4. Secuencias de tortuga carey alineadas por el programa GENEDOC.....35
5. Distancias genéticas medias de haplotipos de tortuga carey, dentro y entre cuencas.....37
6. Distancias genéticas medias de haplotipos de diferentes especies, dentro y entre cuencas.....38
7. Tiempos de divergencias entre diferentes linajes.....41

LISTA DE FIGURAS

1. Filogenia y tiempos de divergencia de tortugas marinas.....3
2. Electroforesis en agarosa de productos de extracción y de PCR.....34
3. Comparación de distancias genéticas a diferentes niveles con sus intervalos de confianza.....39
4. Árbol filogenético generado por el método UPGMA, basado en 42 secuencias de tortuga carey.....42
5. Árbol filogenético generado por el método UPGMA, basado en 92 secuencias de las especies de tortugas marinas.....44

RESUMEN

A pesar de que el grupo de las tortugas marinas es muy reducido, existen controversias acerca de su sistemática; algunos autores han reconocido la existencia de subespecies basados en características morfológicas y distribución geográfica. La sistemática de la tortuga carey también ha sido sujeta a controversias hasta tiempo reciente. Debido a que sus características morfológicas son muy conservadas, se emplean técnicas moleculares para coadyuvar a decidir entre las hipótesis taxonómicas propuestas, proporcionando un enfoque independiente que permite analizar las diferencias observables dentro del proceso evolutivo. En el presente trabajo se realizó un análisis de la región control del mtDNA de individuos de tortuga carey del Pacífico Mexicano. Se encontró un solo haplotipo para la zona de estudio. Este haplotipo, se conjuntó con otros reportados anteriormente para diversas áreas del Indo-Pacífico, con el fin de contar con una representación de la cuenca oceánica. Los haplotipos del Pacífico fueron comparados con haplotipos reportados para poblaciones del Atlántico, la comparación, basada en distancias genéticas, sugiere una diferenciación considerable entre los haplotipos del Pacífico y los del Atlántico, similar a la existente entre este mismo locus en las especies *Lepidochelys olivacea* y *L. kempii* y entre haplotipos de poblaciones de *Chelonia mydas* en diferentes cuencas oceánicas (Pacífico vs. Atlántico). El tiempo de divergencia estimado para la separación de los linajes entre Pacífico-Atlántico (1.6-3.9 Ma), con base en la región control, coincide con el surgimiento del Istmo de Panamá, por lo que se podría inferir un mecanismo alopátrico de diferenciación. El árbol filogenético (UPGMA) generado con secuencias de las diferentes especies corrobora una diferenciación entre los linajes de tortuga carey del Pacífico y del Atlántico, por lo que los resultados de este trabajo sugieren la asignación de un rango taxonómico diferencial a cada uno de ellos.

INTRODUCCIÓN

Los registros fósiles de tortugas marinas aparecen, por lo menos, hace 200 millones de años (Ma), siendo un grupo muy común en el Cretáceo (hace 130 Ma). Los géneros y especies conocidos hoy en día son originarios de la primera parte del Eoceno al Pleistoceno, es decir, hace 60 a 10 millones de años. Junto con las serpientes e iguanas marinas, son los únicos reptiles actuales adaptados a la vida marina, dependiendo de la tierra sólo durante su periodo de reproducción (Márquez, 1990; Frazier, 2001).

Actualmente se reconocen seis géneros y siete especies de tortugas marinas, las cuales pertenecen a dos familias del orden Testudines, uno de los órdenes de reptiles más antiguos. Con la ayuda de evidencia fósil se han logrado estimar los tiempos de divergencia de algunos de los diferentes linajes de tortugas marinas, los cuales se reflejan en la figura 1.

Las tortugas marinas tienen una distribución principalmente tropical y subtropical. Con excepción de la especie *Natator depressus*, todas ellas pueden ser encontradas en México (Márquez, 1996). Las especies difieren entre sí por rasgos morfológicos, sus ciclos estacionales, distribución geográfica y comportamiento. Sin embargo, también se pueden observar diferencias entre poblaciones de una misma especie (Márquez, 1990).

Aún se desconocen algunas etapas de su ciclo de vida ya que, tras la eclosión, aproximadamente después de 45 días de incubación, las crías se orientan y entran al mar siguiendo un hábito pelágico durante periodos de unos cuantos meses a varios años, según la especie. Se desconoce qué rumbo