

Estructura Genética del Pulpo *Octopus maya* en los Estados de Campeche y Yucatán en la Península de Yucatán

JORGE A. TELLO CETINA¹, JOSE B. ESCAMILLA SANCHEZ¹, LUIS A. RODRIGUEZ GIL¹,
ANDRES M. GONGORA GOMEZ², y JOSE L. CARRILLO GALAZ³

¹Instituto Tecnológico de Mérida Av. Tecnológico s/n
A.P. 9-11, Mérida, Yucatán. México

²CIIDIR – IPN
Playa Conchalito, A.P.115 Guasave
Sinaloa México

³Federacion de Cooperativas del Centro y Poniente del Estado de Yucatán
Domicilio Conocido, Progreso, Yucatán

RESUMEN

Se determinó la estructura genética poblacional del pulpo rojo *Octopus maya* en los estados de Campeche y Yucatán en la Península de Yucatán, México, mediante la expresión de isoenzimas en geles de poliacrilamida. Muestras de manto de 25 organismos, capturados en cinco sitios de la Península de Yucatán, se utilizaron para caracterizar la expresión genotípica revelada por la expresión de 23 loci en treinta sistemas enzimáticos. Se utilizó el programa TFPGA versión 1.3 (Tools for population genetic analyses), para procesar los datos de frecuencias génicas de aloenzimas de las poblaciones en estudio. Los parámetros determinados fueron: Estadística descriptiva, Estadística F, Distancias genéticas, Equilibrio de Hardy - Weinberg, UPGMA y el número de migrantes como indicador del flujo de genes.

Los valores de heterocigosis en un rango de 0.2335 para la ME y de 0.4293 para la PGM 1, con un valor de heterocigosis promedio de 0.1238, los de **Fis** con un valor promedio de 0.4100 y los de **Fst** de 0.0111 indican una deficiencia de heterocigotos pero que se encuentran dentro de los rangos reportados para especies de invertebrados marinos. El número de migrantes derivado de la ecuación de Slatkin resultó de 2.1 por generación, lo que en forma global indica un cierto grado de variabilidad entre las poblaciones y es consistente con los bajos valores de distancia genética de Nei encontrados, particularmente el nodo que sugiere la separación de la población de Rio Lagartos y de Dzilam Bravo de las otras poblaciones estudiadas, con un valor obtenido de 0.0004. Por los resultados de este estudio, se concluye que las poblaciones de *Octopus maya* presentan un cierto grado de variabilidad genética interpoblacional que no refleja fragilidad en la subsistencia de estas poblaciones.

PALABRAS CLAVES: Estructura genética, isoenzimas, *Octopus maya*

Genetic Structure of *Octopus maya* in the Campeche and Yucatan States in the Yucatan Peninsula

Genetic population structure of the red squid Mayan Octopus in the Campeche and Yucatan States of the Yucatan, Peninsula, Mexico was determined, by means of the expression of isoenzymes in polyacrylamide gels. Samples of mantle of twenty five organisms, captured in five sites of the Yucatan Peninsula, were used to characterize the genotypic expression revealed by the expression of 23 loci in thirty enzymatic systems. The TFPGA Program, version 1,3 (for Tools population genetic analyses), was used to process the data of genic frequencies of isozymes of the populations in study. The parameters used were: Descriptive statistics, Statistical F, genetic Distances, equilibrium of Hardy - Weinberg, UPGMA and the number of migrants like indicator of the flow of genes. The heterozygosity values, in a range of 0,2335 for ME and 0,4293 for PGM 1, with a value of heterozygosity average of 0,1238, those of Fis with a range of 0,4100 and those of Fst of 0,0110 indicate us a heterozygosity deficiency, but they are within the ranks reported for species of marine invertebrates. The derived number of migrants of the equation of Slatkin was from 2,1 by generation, which in global form indicates a certain degree of variability between the populations and is consistent with the low values of genetic distance of Nei found, particularly the node that suggests the separation of the population of Rio Lagartos and Dzilam Bravo with the others studied populations, with an obtained value of 0.0004. From the results of this study, we can conclude that the populations of Mayan octopus present a certain degree of interpopulation genetic variability that does not reflect fragility in the subsistence of these populations.

KEY WORDS: Genetic structure, isozymes, *Octopus maya*

INTRODUCCIÓN

La caracterización de la estructura genética poblacional constituye un criterio de gran utilidad para la preservación de especies de importancia comercial y ecológica ya que ésta es indicadora de la heterogeneidad u homogeneidad de las poblaciones sobre grandes regiones geográficas (Bates y Innes 1995). El pulpo *Octopus maya* Voss y Solís, (1966) cefalópodo marino del Phylum mollusca, es una especie litoral propia de la Península de Yucatán, que viven en resquicios de rocas y oquedades del fondo y en algunas ocasiones ocupando conchas de gasterópodos y diversos objetos sumergidos que le sirven de madriguera. La pesquería de *Octopus maya*, comúnmente llamado pulpo rojo, es de gran importancia en las costas del Estado del Yucatán en donde compite por su gran volumen de captura con la pesquería de mero (*Epinephelus morio*) y en Campeche con la pesquería de camarón (*Penaeus sp.*) (Solís y Chávez 1986, SEPESCA 1994).

La gran presión de pesca ha la que ha estado sometido el recurso, ha propiciado una caída drástica en los volúmenes de extracción de biomasa en los últimos años, lo cual dio pauta para la implementación de un periodo de veda que abarca del 16 de diciembre al 31 de julio, periodo en el que supuestamente se le da oportunidad a las hembras de poner sus huevos y a los juveniles de crecer.

En el caso de *O. maya*, punto importante lo representa el hecho de que cuando eclosiona del huevo ya es un pulpo con todas las características de sus congéneres adultos, lo cual a final de cuentas incide en su poca dispersión ya que desde pequeño tiende a guarecerse y a no moverse mucho (SEMARNAP 1998). Lo anterior conlleva a establecer si las poblaciones de *O. maya* en los estados en los que se le captura son aisladas o bien pertenecen a una sola población ampliamente distribuida.

En vista del desconocimiento de la información fundamental sobre la genética de las poblaciones de *Octopus maya* en la Península de Yucatán, que sirva como criterio para la mejor explotación y complemente las normas de la pesquería de este recurso, es objetivo del presente trabajo determinar la estructura genética de las poblaciones mas importantes de *O. maya* en esta área con el fin de coadyuvar al establecimiento de los mecanismos y estrategias adecuadas para el mejor manejo de la pesquería de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

La obtención de los organismos se realizó en cinco sitios en los estados de Campeche y Yucatán en las costas de la Península de Yucatán. Veinticinco organismos de todas las tallas de cada sitio fueron colectados con la ayuda de pescadores de cada lugar.

Muestras de manto se homogeneizaron en un volumen igual de buffer de extracción consistente de Tris HCl 12.1 g, EDTA 336 mg, NAD⁺ 20 mg y ajustado a un pH de 7 (Shaklee y Keenan 1986), se centrifugaron a 10 000 rpm por 10 min. a 7°C en una centrífuga refrigerada. Geles de

poliacrilamida al 7.7%, preparados para ser utilizados con el sistema nativo (Brewer 1970) se utilizaron para efectuar el corrido electroforético, el revelado histoquímico y la determinación fenotípica de las muestras. La presencia fenotípica se determinó siguiendo los procedimientos de Shaw y Prasad (1970), Brewer (1970) y Shaal y Anderson (1974). Loci presumidos y alelos fueron designados por medio del sistema de nomenclatura utilizado por Shaklee y Keenan (1986). Múltiples loci de una enzima en particular se designaron numéricamente (1, 2, 3, etc.) considerando el de más rápida a más baja movilidad anodal. Alelos de un locus en particular fueron designados por su movilidad anódica relativa y nombrando al alelo mas frecuente como 100 y los demás por arriba y por debajo de éste con los valores respectivos. Loci y alelos fueron designados de acuerdo al sistema de nomenclatura propuesto por Shaklee y Keenan (1986). Un locus se consideró polimórfico si el alelo más frecuente tiene una probabilidad menor que 95%. (Towson y Shing 1984) y el nivel de heterocigosis se determinó con relación a la ley del Equilibrio de Hardy-Weinberg. Se utilizó el programa denominado TFPGA versión 1.3 (Tools for population genetic analyses), para efectuar el análisis de datos genéticos de aloenzimas de poblaciones (Miller 2000). Los diversos parámetros determinados fueron: Estadística descriptiva, Estadística F, Distancia Genética, Pruebas de robustez para Hardy - Weinberg y UPGMA.

RESULTADOS

Se utilizaron únicamente los loci que no fueron monomórficos para determinar el nivel de polimorfismo. En la Tabla 1, se presentan los resultados promedio de los valores de heterocigosis, así como los de polimorfismo en dos formas diferentes para todos los sitios y los valores globales. El valor de 0.1238 de heterocigosis global, se puede considerar bajo. Asimismo, se presentan los valores de polimorfismo, 34.782% para Isla Arenas, 34.7826% para Celestún, de 27.2727 para Champotón, de 27.2727% para Dzilam de Bravo y de 28.5714% para Río Lagartos con un valor global del 34.7826% en todas las poblaciones. Estos valores indicaron diversidad intrapoblacional con poca heterogeneidad interpoblacional.

La Tabla 2, presenta los valores globales obtenidos con las pruebas de Chi Cuadrada. Se aprecia que solo el locus de la FBP presento significancia para esta prueba estableciéndose de los 8 loci que presentaron variación en el tejido de manto en las tres poblaciones analizadas, el 12.5% se apartan de la condición de equilibrio. El análisis de remuestreo utilizando el método de Monte Carlo para cada uno de los sitios confirmó que solamente la FBP es el locus que presenta alguna variabilidad.

Tabla 1. Resultados de estadística descriptiva para las poblaciones y el total en manto de *Octopus maya*.

Parámetro	Arenas	Celestún	Champotón	Dzilam Bravo	Río Lagartos	Global
Tamaño promedio de muestra	25	25	25	25	25	125
Heterocigosis promedio	0.1360	0.1446	0.1000	0.0952	0.0885	0.1238
Heterocigosis promedio directa	0.1096	0.0974	0.0436	0.0418	0.0457	0.0738
% Loci polimorficos sin criterio	34.782	34.7826	27.2727	27.2727	28.5714	34.7826
% Loci polimorficos al 95 %	34.782	34.7826	27.2727	27.2727	28.5714	34.7826

Tabla 2. Pruebas de Bondad de ajuste para el equilibrio de Hardy – Weinberg, Chi Cuadrada, en manto de *Octopus maya* para todas las poblaciones

Locus	Genotipo	Observados	Esperados	X ²
ARGK	11	89	76.0500	0.0000
	12	17	42.9000	
	22	19	6.0500	
EST1	11	77	69.1920	0.0002
	12	32	47.6160	
	22	16	8.1920	
FBP	11	32	29.6450	0.0600***
	12	13	17.7100	
	22	5	2.6450	
G6PDH1	11	76	69.1920	0.0014
	12	34	47.6160	
	22	15	8.1920	
MDH	11	85	74.4980	0.0000
	12	23	44.0040	
	22	17	6.4980	
ME	11	81	74.8225	0.0000
	12	11	23.3550	
	22	8	1.8225	
OCTDH	11	79	70.6880	0.0001
	12	30	46.6240	
	22	16	7.6880	
PGM1	11	71	59.1680	0.0000
	12	30	53.6640	
	22	24	12.1680	

***se aparta del equilibrio

Los valores de **F_{is}** y los del índice de fijación **F_{st}**, de la Tabla 3, van desde 0.2857 para la FBP hasta 0.6057 para la ARGK con un valor promedio de 0.4100, para el primer parámetro y los segundos presentan un valor promedio de 0.0110 con un rango de - 0.0209 para la OCTDH hasta 0.0293 para la FBP.

Los valores de Distancia e Identidad Genética, se determinaron por medio del concepto de Nei 1972, se presentan en forma de matriz en la Tabla 4, todas las poblaciones son comparadas de manera pareada.

En el caso de la Identidad, la relación Isla Arenas – Dzilam de Bravo tuvo el valor menor de 0.9927 y la relación Champotón – Dzilam de Bravo fue la de mayor valor, en el caso de la Distancia genética la relación se mantuvo siendo el menor valor con 0.0004 y la de 0.0073 fue la mayor. Independientemente de cual haya sido el modelo que se utilizara los valores de relación menores y mayores siempre se mantuvieron entre los pares de poblaciones.

Tabla 3. Resultados de estadístico F en manto de *Octopus maya*.

Loci	Alelo	F	θ	f
ARGK	1	0.6057	-0.0081	0.6088
	2	0.6057	-0.0081	0.6088
	totales	0.6057	-0.0081	0.6088
EST 1	1	0.3290	-0.0196	0.3419
	2	0.3290	-0.0196	0.3419
	totales	0.3290	-0.0196	0.3419
FBP	1	0.2857	0.0293	0.2642
	2	0.2857	0.0293	0.2642
	totales	0.2857	0.0293	0.2642
G6PDH1	1	0.2906	0.0072	0.2855
	2	0.2906	0.0072	0.2855
	totales	0.2906	0.0072	0.2855
MDH	1	0.4793	-0.0112	0.4851
	2	0.4793	-0.0112	0.4851
	totales	0.4793	-0.0112	0.4851
ME	1	0.5538	0.1871	0.4511
	2	0.5538	0.1871	0.4511
	totales	0.5538	0.1871	0.4511
OCTDH	1	0.3575	-0.0209	0.3706
	2	0.3575	-0.0209	0.3706
	totales	0.3575	-0.0209	0.3706
PGM1	1	0.4428	-0.0130	0.4500
	2	0.4428	-0.0130	0.4500
	totales	0.4428	-0.0130	0.4500
Promedio		0.4100	0.011	0.4034

Tabla 4. Matriz con los valores de distancia e identidad según Nei 1972 para todas las poblaciones de *Octopus maya*. Los datos de arriba de la diagonal son valores de distancia y los de debajo de identidad.

Población	1	2	3	4	5
1	*****	0.0020	0.0066	0.0073	0.0034
2	0.9980	*****	0.0042	0.0055	0.0049
3	0.9934	0.9958	****	0.0004	0.0013
4	0.9927	0.9945	0.9996	****	0.0013
5	0.9967	0.9951	0.9987	0.9987	****

DISCUSIÓN

Las cinco poblaciones de *Octopus maya* analizadas en las costas de la Península de Yucatán presentan una baja variabilidad y una poca diferenciación geográfica entre ellas, los valores de heterocigosis son relativamente bajos e indican una cierta deficiencia de heterocigotos, el valor de polimorfismo encontrado es relativamente bajo 34.7826%, si se compara con el 58% en promedio para invertebrados marinos (Saavedra *et al.* 1993). Estos bajos niveles de variabilidad pueden tener diversos orígenes desde una circunstancia propia de la especie, el nivel de explotación

de las poblaciones en el área o el tamaño de muestra utilizado (Heist *et al.* 1995). El valor de heterocigosis media global de 0.1238, aunque se puede considerar bajo cae dentro de los típicamente esperados para especies de invertebrados marinos en general ya que la deficiencia de heterocigotos es una característica común encontrada en estudios en invertebrados marinos (Mamuris *et al.* 1998, Boisselier *et al.* 1999) aunque las características reproductoras de muchas de esas especies reflejen el clásico modelo panmítico de las poblaciones genéticas (Bierley *et al.* 1996). No obstante, existe la posibilidad de que otros factores influyan para que se presenten niveles bajos de heterocigotos tales como el resultado de la mezcla de poblaciones (Efecto Wahalund), los diversos tipos de selección, la presencia de alelos nulos o la pérdida de cromosomas que podrían causar estimaciones incorrectas de las fracciones fenotípicas (Creasey *et al.* 1996). En el caso de *O. maya* los bajos valores de F_{st} 0.0110 y de F_{is} 0.4100 determinados entre las poblaciones nos indican que no se puede considerar al efecto Wahalund como la causa de este fenómeno, aunque se mantiene la idea de que existe la entrada de migrantes (2.1) en las poblaciones. Como no se consideró la presencia de alelos nulos, es menester pensar que la alternativa que esta ocurriendo en las poblaciones se deba al efecto de algún tipo de selección.

No obstante se ha sugerido y en algunos casos demostrado el flujo de genes, los resultados obtenidos mediante el análisis por Chi – Cuadrada nos indican que solo un mínimo de loci son significativamente diferentes.

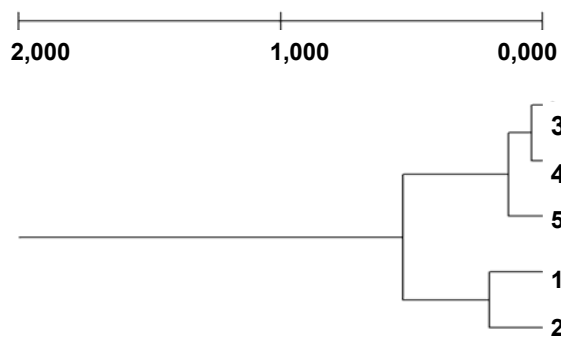
Las pruebas de randomización efectuadas en los loci que mostraron significancia también sugieren la idea de que algún factor desconocido pueda ser el responsable de los resultados del análisis estadístico. Aunque el fenómeno de baja heterocigosis observada puede causar problemas con el uso de datos electroforéticos en la discriminación de las poblaciones de *Octopus maya*, al utilizar parámetros como lo son la identidad y la distancia genética estos trabajan bien cuando los valores de heterocigosis encontrados en especies bajo investigación son bajos y se tiene un número suficiente de loci, 23 para este trabajo, con los cuales se subsana el problema de contar con un tamaño pequeño de muestra (Bierley *et al.* 1996) (Figura 1).

Los valores de distancia e identidad obtenidos para *Octopus maya* indican que son valores típicos para especies o poblaciones que se encuentran bien mezcladas.

Los dendogramas generados por las medidas de distancia de Nei y el análisis UPGMA Cluster fueron similares pero no idénticos al agrupar las poblaciones. Los valores de distancias fueron diferentes en todos los casos, sin embargo, en ninguno se cambio la distribución de las poblaciones en el análisis Cluster siendo la población de Río Lagartos la que presento la mayor distancia respecto a las otras. Este resultado es congruente con el patrón de corrientes que se dan en el Golfo de México y que propicia que la estructura y variación genética de esta población comparada con las otras cuatro, sea la que manifieste las

mayores diferencias.

No obstante, variaciones estocásticas en la corriente de agua, los vientos de superficie, eventos meteorológicos y aun remolinos localizados, podrían afectar la dispersión de los organismos y modificar el reclutamiento de estos en localidades particulares corroborando y concluyendo que tales eventos pueden mantener el estado de discreción de las poblaciones en forma espacial o temporalmente, lo que a final de cuentas evitan la homogenización de estas y propician la diferenciación y valores de distancia genética característicos de esta población.



1.- Isla Arenas 2.- Celeste 3.- Champotón 4.- Dzilam de Bravo 5.- Río Lagartos

Figura 1. Dendrograma con los valores de distancias según Nei 1072.

LITERATURA CITADA

- Bates, J.A. and D.J. Innes. 1995. Genetic variation among populations of *Mytilus* spp. in eastern Newfoundland. *Marine Biology* **124**:417-424.
- Bierley, A.S., A.L. Alicock, and J.P. Torpe. 1996. Biochemical genetic evidence supporting the taxonomic separation of *Loligo edulis* and *Loligo chinensis* (Cephalopoda: Teuthoidea) from the genus *Loligo*. *Marine Biology* **127**:97-104.
- Boisselier-Dubayle, M.C., and S. Gofas. 1999. Genetic relationships between marine and marginal - marine populations of *Cerithium* species from the Mediterranean Sea. *Marine Biology* **135**:671-682.
- Brewer, G.Y. 1970. *An Introduction to Isozyme Techniques*. Academic Press, New York, New York USA. 186 pp.
- Bucklin, A.M., M. Rienecker, and C.N.K. Mooers. 1989. Genetic traces of zooplankton transport in coastal filaments of Northern California. *Journal of Geophysical Research* **94**:8277-8288.
- Creasey, S., A.D. Rogers, and P.A. Tyler. 1996. Genetic comparison of two populations of the deep sea vent shrimp *Rimicaris exoculata* (Decapoda: Bresiliidae) from the Mid-Atlantic ridge. *Marine Biology* **125**:473-482.
- Heist, E.J., J.E. Graves, and J.A. Musick. 1995. Population genetics of the sandbar shark (*Carcharhinus plumbeus*) in the Gulf of Mexico and Mid Atlantic Bight. *Copeia* **5**:556-562.
- Mamuris, Z., A.P. Apostolidis, and C. Triantaphyllidis. (1998). Genetic protein variation in red mullet (*Mullus Barbatus*) and striped red mullet (*M. surmuletus*) populations from the Mediterranean Sea. *Marine Biology* **130**:353-360.
- Miller, M. 2000. TFPGA. A windows program for the analyses of allozyme and molecular population genetic data. Version 1.3. Department of Biological Sciences. Northern Arizona University.
- Nei, M. 1972. Genetic Distance between populations. *American Naturalist* **106**:283-292.
- Rogers, J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *University of Texas Publications* **7213**:145-153.
- Saavedra, C., C. Zapata, A. Guerra, and G. Alvarez. 1993. Allozyme variation in european populations of the oyster *Ostrea edulis*. *Marine Biology* **115**:85-95.
- SEMARNAP. 1998. Contribuciones de investigación pesquera. Aspectos biológicos del pulpo. *Octopus maya* Voss y Solís. Documento Técnico 7.
- SEPESCA. 1994. Diagnostico pesquero del estado de Yucatán. Documento técnico de divulgación. CRIP-Yucalpetén. Yucatán.
- Shaklee, J.B. and C.P. Keenan. 1986. A practical laboratory guide to the techniques and methodology of electrophoresis and its application to fish fillet identification. CSIRO, Marine Research Laboratories, Australia. Report 177. 60 pp.
- Shaal, B.A. and W.W. Anderson. 1974. An outline of techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from the american oyster *Crassostrea virginica* *Georgia Technical Report Series* **74-3**.
- Shaw, R.Ch. and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. *A compilation of recipes. Biochemical Genetics* **4**:297-320
- Solis, R.M.J. y E.A. Chávez. 1986. Evaluación y régimen optimo de pesca del pulpo en la Península de Yucatán, México. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón.* **13** (3): 1-18.
- Towsend, D.R. and R.S. Shing. 1984. Genetic variation for a monomer and dimer equilibria of esterase 5 in *Drosophila pseudoobscura*, *D. Persimilis* y *D. miranda*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* **28**:374-381.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 4. Variability Within and Among Natural Populations*. University of Chicago, Chicago, Illinois USA. 580 pp.