

Variación Isoenzimática en Poblaciones del Molusco Marino *Strombus gigas* (L.) en las Costas de Quintana Roo

ANDRES GÓNGORA GOMEZ, LUIS ALFONSO RODRÍGUEZ GIL, y
JORGE TELLO CETINA

Instituto Tecnológico de Mérida

División de Estudios de Posgrado, Laboratorio de Aprovechamiento de

Recursos Marinos y Agropecuarios

Km-5 Carretera Mérida, Progreso. A.P. 9-11

C.P. 97118 Mérida, Yucatán, México

RESUMEN

El desconocimiento de la estructura poblacional puede jugar un importante papel en el colapso de las pesquerías, pues las diferencias en las historias de la vida de las subpoblaciones frecuentemente propician la sobrestimación del tamaño de las unidades pesqueras o "stocks" y la consecuente sobrepesca. La inexperiencia de la medida en que los factores genéticos contribuyen a la formación de "stocks" es relevante para la planificación de la explotación del recurso, ya que su reconocimiento como unidades de pesca independientes puede lograr evitar la pérdida de características poblacionales importantes y la conservación de su patrimonio genético. El presente trabajo se analiza la variación isoenzimática del caracol reina *Strombus gigas* (L.) en las costas de Quintana Roo con el propósito de establecer las posibles diferencias genéticas entre poblaciones. Cincuenta organismos fueron capturados en cada uno de los tres sitios de colecta (Isla Mujeres, zona Norte; Punta Allen, zona Centro y Banco Chinchorro, zona Sur) mediante buceo autónomo, sin considerar tamaño, sexo o peso. Se seccionaron segmentos de tejido muscular y gónada, para ser utilizados como elementos de estudio. El soporte de electroforesis consistió en un gel homogéneo de poli(acrilamida) al 7.5 %. La electroforesis se realizó en medio nativo, en una cámara horizontal colocada en frío a una temperatura de 4°C. El gel se corrió a 150 V y 68 mA durante 5 horas. De los tres sistemas isoenzimáticos utilizados, AAT, IDH y OPDH en las tres localidades, solo la OPDH-2 resultó ser polimórfica. La variabilidad genética intrapoblacional y la diferenciación genética interpoblacional del caracol reina *S. gigas* en las costas de Quintana Roo, estimados a partir de los tres sistemas isoenzimáticos, permitieron establecer una sola población en el Caribe Mexicano. Es necesario destacar que la población localizada en Punta Allen mostró más diversidad genética que las otras dos poblaciones; en cuanto al flujo y a la distancia genética también permitieron establecer la diferencia entre esta población (Punta Allen) con las de Isla Mujeres y Banco Chinchorro, sin embargo, cabe mencionar que los resultados obtenidos de esta población no son lo suficientemente significativos como para pensar que esta sea una población aislada o alopátrica.

PALABRAS CLAVES: Electroforesis, Isoenzimas, *Strombus gigas*.

INTRODUCCION

Desde los inicios de la Ciencia Pesquera en la segunda mitad del siglo pasado hasta nuestros días, el concepto de "stock" ha sufrido cambios sustanciales, de una manera más simple, los recursos pesqueros o *stocks* podían definirse en una base geográfica, dependiendo del radio de acción de la flota o la distribución geográfica del recurso, o bien de acuerdo a la vulnerabilidad para cierto tipo de arte de pesca (Gauldie 1991). Sin embargo, estas formas de definir a los stocks representaban formas muy generales y dejaban fuera todos los aspectos que implican una identidad con un sentido más biológico. Aunque todavía existen quienes consideran a los *stocks* como simples unidades de explotación (Royce 1984).

Ihssen et al. (1981) definen "stock" como un grupo intraespecífico de individuos que se reproducen al azar con integridad espacial y temporal, desde un punto de vista pesquero, esta integridad se refiere a una homogeneidad en las tasas de reclutamiento, crecimiento y mortalidad (Cushing 1968). Desde el punto de vista genético, la integridad implica un acervo genético en común que debe mantenerse diferenciado de otros "stocks" (Kutkuhn 1981). Es importante mencionar que términos como deme, raza y subpoblaciones se han utilizado para describir unidades poblacionales equivalentes a stock (Horrall 1981).

En la conceptualización moderna de "stock", la genética es importante ya que la identificación por otros métodos, como el análisis de parámetros poblacionales, marcado-recaptura, fisiología y comportamiento, morfometría, merística, estructuras calcificadas y citogenética tienen dificultades implícitas que les restan confiabilidad (Ihssen et al. 1981). Una de estas dificultades es que, en la variación fenotípica, el medio ambiente ejerce una influencia que en la gran mayoría de los casos es imposible de cuantificar (Ihssen et al. 1981, Allendorf et al. 1987).

Los estudios de genética de poblaciones han encontrado eco en el estudio de las pesquerías, ya que en algunos casos la separación entre poblaciones o "stocks" de una especie no es muy evidente. A partir de los años cincuenta los métodos bioquímicos empiezan a incursionar dentro de la problemática de diferenciación de poblaciones, primero como estudios complementarios hasta ocupar hoy en día un lugar preponderante como herramienta de trabajo (Utter 1991) y se ha demostrado la gama de problemas específicos que se pueden resolver (Wirgin y Waldman 1994). Sin embargo, todavía en la década de los ochentas se reconocía una deficiencia en la interacción genética-recursos pesqueros (MacLean y Evans 1981, Allendorf et al., 1987). Aunque se insistía que una buena administración de los recursos y los exitosos programas de conservación no debían de dejar aun lado los aspectos genéticos (Ryman 1981, Allendorf et al. 1987), parecía ser que esto sólo lo sabían los genetistas poblacionales. Afortunadamente esta mentalidad está cambiando, a medida que se van desarrollando técnicas bioquímicas con mayor resolución en la identificación de genotipos, aunado con el interés en el manejo adecuado y la conservación de los recursos pesqueros (Grijalva 1995).

El desarrollo de la genética, con sus diferentes aportes técnicos ha permitido el análisis de una serie de productos biológicos en los organismos cuya actividad es fundamental para la vida de los mismos; con esto nos estamos refiriendo a las

isoenzimas, este término se ha utilizado para designar las múltiples formas de una enzima codificadas por genes diferentes (Kirpichnikov 1981, Ayala 1983, Tello, 1986).

Los patrones de tejidos y el desarrollo de la expresión de loci enzimáticos en diferentes tejidos y durante el desarrollo son frecuentemente característicos de una especie, género o taxón superior y de esta manera son fácilmente utilizados para el estudio evolutivo, la regulación de genes y la genética de poblaciones (Ferris y Whitt 1979). Estos patrones son similares en especies relativamente cercanas y poco parecidos en las que se encuentran muy distantes.

En general estas proteínas son productos de la expresión de un gene y de acuerdo a la genética mendeliana pueden tener dos o más alternativas de expresarse. Debido a los aportes técnicos de la genética molecular, teóricamente existe la posibilidad de poder detectar entre un 20 % a un 50 % de la información genética presente en un organismo (Ayala 1983).

La caracterización de la estructura genética poblacional es vital para especies de importancia comercial y ecológica ya que ésta nos indica la heterogeneidad u homogeneidad de poblaciones sobre grandes regiones geográficas. Esta heterogeneidad, como establecen McMillen et al. (1994) han demostrado que es reflejo de la variación genética de los individuos que componen la población, ya que la variación genética es uno de los parámetros fundamentales en el proceso evolutivo.

Los estudios realizados con isoenzimas se han llevado a cabo en numerosas especies, tanto animales como vegetales, terrestres y acuáticos con diferentes propósitos y por investigadores de múltiples disciplinas (Hamrick, 1989; Lu y Willians 1994, Townsend y Shing 1984, Haylor et al. 1984, Trujillo et al. 1995, Willians y Benzie 1996).

Los caracoles marinos no son la excepción a esta situación y dentro del contexto global, la dificultad de establecer la estructura genética poblacional de los organismos y la variación genética de los mismos es otro ejemplo característico del problema. Estos tipos de organismos, presentan además características propias al ser organismos de poco movimiento y tener desarrollo larval en cierta etapa de su ciclo vida lo cual dificulta y amplía la problemática de determinar el nivel de la variación genética.

Un caso de sumo interés por resolver en pesquerías y que concierne a México es el recurso del caracol marino, *Strombus gigas*. Este caracol es una de las seis especies de Strombidos, que habitan la Península de Yucatán, además de ser utilizados como alimento en el consumo humano, también son empleados como materia prima para la fabricación de artesanías, adornos o joyerías (Solís 1994, Rodríguez 1994).

S. gigas, es un recurso pesquero de elevado interés económico y en algunas áreas donde se le encuentra representa sino la única, una de las más importantes pesquerías en el Caribe Mexicano. En México, *S. gigas* se encuentra únicamente en la Península de Yucatán y específicamente en las costas de Yucatán y Quintana Roo (Rodríguez 1994), en esta superficie de aproximadamente 700 km, un reducido

número de zonas de captura han sido tradicionalmente explotadas y las mayores congregaciones de caracol se encuentran en estos lugares y poca o nula presencia en otras áreas, existiendo un gradiente de población de Norte a Sur de la Península de Yucatán (Quijano 1988).

El recurso caracol, particularmente *Strombus gigas*, muestra síntomas evidentes de sobreexplotación en toda su área de distribución, lo cual es el caso de la mayoría de los países del Caribe, situación que ha obligado a algunos de los países del Atlántico Centro-Occidental, a declarar la veda permanente del recurso (Rodríguez 1994, Solís 1994).

Es base a lo anterior y considerando las características de *S. gigas* en la Península de Yucatán, como son: su desconocimiento genético poblacional, su elevada importancia económica y el alto nivel de explotación a la que se encuentra sometida la pesquería, se hace necesario realizar este trabajo cuyo objetivo es determinar la variación la variación isoenzimática del caracol reina *S. gigas* (L) en las costas de Quintana Roo con el propósito de establecer las posibles diferencias genéticas intra e Inter. poblacionales en función de su análisis genético.

MATERIALES Y METODOS

El estudio sobre el análisis genético poblacional y muy en particular de la variación isoenzimática en las poblaciones del molusco marino *S. gigas* requiere de una metodología relativamente estandarizada por otros autores (Berg et al. 1986; Sobel, et al. 1988, Mitton, et al. 1989 y Campton, et al. 1992). Las particularidades de las técnicas se describen más adelante pero a continuación se muestra un diagrama de flujo que resume los principales pasos del estudio (Figura 1).

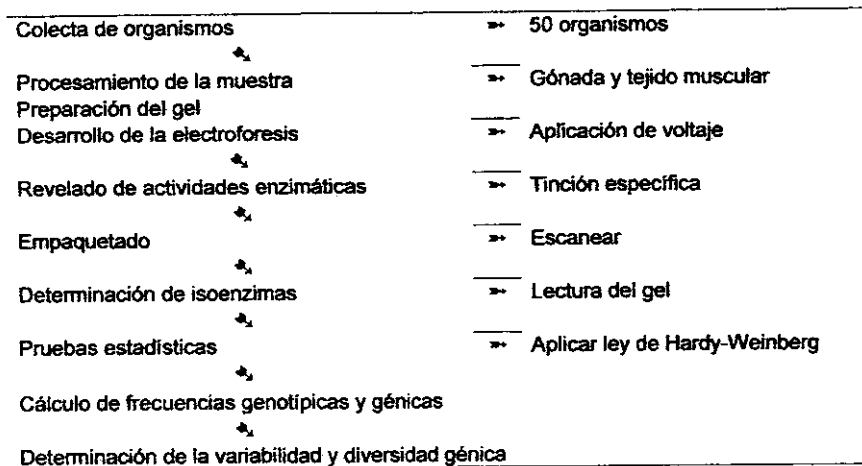


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de electroforesis enzimática en gel de poliacrilamida.

Area de Colecta

En tres sitios de las costas del estado de Quintana Roo, México: Isla Mujeres, Punta Allen y Banco Chinchorro (Figura 2), se efectuó la colecta de 50 organismos por cada sitio de la especie *Strombus gigas*. Los organismos se obtuvieron a profundidades entre 3 y 25 m mediante buceo autónomo con ayuda de pescadores de la región. El substrato predominante fue de arena fangosa y pasto marino constituido por *Siringodium filiforme* y *Thalassia testudinum*. Estos sitios fueron elegidos en función de ser considerados sitios tradicionales de captura de la especie, además de su ubicación geográfica en el estado.

Isla Mujeres— es una pequeña isla enclavada en la parte Noroeste del Estado de Quintana Roo (Figura 2) y se localiza entre los 21°11' y 21°15' latitud Norte y los 86°41' y 86°45' longitud Oeste en donde se encuentra agregaciones de caracoles marinos pero ya muy diezmados debido a la gran presión de pesca y a la elevada actividad turística de la zona, esto ha propiciado que los organismos se encuentren a profundidades superiores a los veinte metros. En esta zona, la Secretaría de Pesca desde 1991 decretó la veda del recurso (Rodríguez 1994).

Punta Allen— (Figura 2) en donde existe una comunidad dedicada por entero a la captura del caracol rosado y langosta espinosa, se encuentra en las costas del Estado de Quintana Roo en las coordenadas 19°47' latitud Norte y 87°28' longitud Oeste. Aquí las agregaciones de caracol se encuentran bien representadas en cuanto a tallas y sexos debido sobre todo a que existe una regulación y vigilancia por parte de los mismos pescadores que como cosa curiosa han lotificado el mar para poder tener en cada área privada sus propias artes de pesca. La veda del recurso en este sitio esta impuesta desde 1991 por la Secretaría de Pesca (Rodríguez 1994).

Banco Chinchorro — se encuentra en la zona Sur del estado de Quintana Roo (Figura 4), esta localizado en los 18°47' y 18°23' latitud Norte y 87°14' y 87°27' longitud Oeste, es un complejo arrecifal frente a la costa sureste del estado de Quintana Roo, entre las poblaciones del Río Indio y Xcalac. Se encuentra separado casi 30 km del continente por un gran canal con profundidades que alcanzan hasta los 1000 m (Jordán y Martín 1987). Tres zonas bien definidas se encuentran en este arrecife: Cayo Lobos, Cayo Norte y Cayo Centro, los cuales son el sitio de campamento de los pescadores y en cuyas inmediaciones se capturaron los organismos. Es la única zona del Caribe Mexicano en donde existen las mayores agregaciones de *Strombus gigas* y en donde hasta ahora se permite la captura por cuota del caracol rosado (Rodríguez 1994).

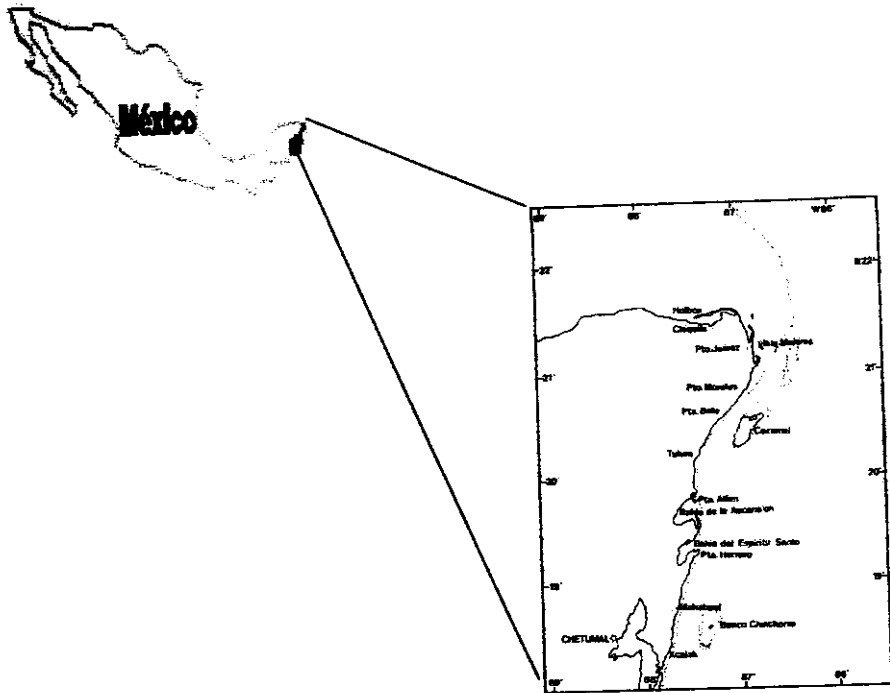


Figura 2. Area de colecta del caracol rosado, *Strombus gigas* (L) en el Caribe Mexicano.

MANEJO DE LAS MUESTRAS

Los organismos fueron sacrificados mediante el “desconcheo”, se tomaron medidas de longitud de la concha (cm), peso del organismo desconchado (g) y determinación del sexo. Con la ayuda de un bisturí se seccionaron segmentos de gónada y tejido muscular para ser utilizados como elementos de estudio. Las muestras se colocaron en viales criogénicos de 4.5 ml, se depositaron en un contenedor marca Taylor-Wharton (10 LD) el cual contenía nitrógeno líquido y se trasladaron al laboratorio de recursos marinos del Instituto Tecnológico de Mérida, en donde se almacenaron en un congelador marca REVCO a -40°C .

Secciones de 1 g de gónada y tejido muscular fueron homogenizadas con un buffer de extracción nativo pH 7 o buffer de muestra pH 7, en una relación p/v de 1:2 en un mortero y pistilo de porcelana. El homogenizado se centrifugó a 8000 rpm por 10 minutos a 7°C en una centrifuga refrigerada marca Beckman, usando el rotor F2402H Speed con capacidad para 24 tubos. El sobrenadante fue transferido a tubos Eppendorf de 2 ml y almacenados a -40°C , para su posterior análisis isoenzimático (Tello 1986).

Electroforesis

La electroforesis se realizó en un medio nativo, en donde se utilizaron condiciones no desnaturalizantes. En ésta técnica, la integridad estructural de las proteínas es mantenida y las enzimas pueden ser identificadas al ser hechas reaccionar con un sustrato específico y la posterior tinción histoquímica del producto resultante. El soporte de electroforesis consistió en un gel homogéneo de poliacrilamida al 7.5 %, la solución se vertió entre dos placas (12.5 x 26 cm) de vidrio, separadas por un espacio de 0.2 cm. (Hames y Rickwood 1986).

El corrido electroforético se efectuó en una cámara horizontal modelo: A 3-1 (Owl Scientific, Inc. Woburn, USA) dotada de un generador de corriente con un máximo de 2500 V, 250 mAmp y 100 W.

La cámara de electroforesis horizontal fue llenada con el buffer del electrodo antes de colocar en ella el gel; el puente eléctrico entre el gel y el buffer del electrodo se efectuó mediante una tela altamente absorbente para asegurar la adecuada conectividad. El gel fue equilibrado sin la muestra (precorrido o pre-electroforesis) durante 30 minutos a 120 V y 35 mAmp. Efectuado el precorrido electroforético, se procedió a realizar la electroforesis colocando en cada una de las celdillas volúmenes de muestra de 18 ml, se adicionó a una muestra una gota de azul de bromofenol para visualizar el corrido de la muestra a través del gel; durante 5 horas a 150 V y 68 mAmp.

Los métodos de tinción o revelado para los geles, fueron los propuestos por diversos autores (Brewer 1970, Shaw y Prasad 1970, Brewer, et al. 1974, Shaklee y Keenan 1986). Tres sistemas isoenzimáticos fueron utilizados durante este estudio: aspartato aminotransferasa (ATF), isocitrato deshidrogenasa (IDH) y octopino deshidrogenasa (OPDH). Para una mejor manipulación de los zimogramas y almacenamiento por largos periodos de tiempo el gel fue empaquetado.

Actividades Isoenzimáticas

El número de isoenzimas presentes en el genoma de cada tejido, se determinó en función de la migración de las fracciones reveladas y la fracción de esta en el gel. Posteriormente se procedió a determinar el número de alelos correspondientes.

Las fracciones fueron designadas y numeradas, basándose en su movilidad relativa (Rf), arbitrariamente del cátodo(-) al ánodo(+). Se codificó como 100 el alelo más común y a partir de éste, valores mayores o menores dependiendo de las Rf calculadas (Allendorf y Utter 1979).

Pruebas Estadísticas

Se utilizó el programa denominada TFPGA (Tools for Population Genetic Analyses), el cual es un programa en ambiente Windows que es utilizado, para efectuar el análisis de datos genéticos de alozimas de poblaciones (Miller, 2000) en su versión 1.3.

Este programa fue alimentado con los datos de las expresiones fenotípicas de los organismos muestreados en forma binaria y que se consideraban sean polimórficos de acuerdo al criterio establecido para este fin, los diversos parámetros

determinados se expresan a continuación.

Estadística Descriptiva

Se obtiene información con respecto al número de alelos, frecuencia de heterocigotos, la heterocigosis estimada y las estimaciones del porcentaje de loci polimórficos a un nivel de jerarquía previamente establecido y un criterio de 95 %. Se proporcionan estimaciones de heterocigosis directa u observada, la esperada bajo el criterio de Hardy-Weinberg y la estimada por Nei (Weir 1990).

Estadística de FST de Wright

Se aplican los métodos de la estadística FST desarrollada por Wright (Sokal y Rohlf 1995, Weir 1990). La medida de variación entre individuos dentro de las poblaciones, $f = FIS$ o media de fijación y la medida de variación entre poblaciones, $\Theta = FST$ o coeficiente de coancestridad.

Se utilizaron las alternativas de remuestreo conocidas como Jackknifing y Bootstrapping, para con ellas remover el posible sesgo obtenido con el muestreo y establecer estimadores más confiables a la hora de efectuar el análisis estadístico. Se estimaron los resultados para cada locus y para cada alelo a un nivel de confianza del 95 %, con unas 1000 repeticiones para el Bootstrapping sobre todos los loci.

Distancias Genéticas

Las medidas de similitud utilizadas por este programa son dadas para las opciones de: La distancia original de Nei, 1972 y la insegada de Nei (1978) así como las de identidad respectiva.

Las distancias mínimas e identidades de Nei (1972) y la insegada de Nei (1978). La distancia de Wright (1978) modificada de la de Rogers (1972). La distancia y coancestridad de Reynolds et al., (1983). Todos estos parámetros dados por Weir, 1990.

Pruebas de Robustez para Hardy-Weinberg

En estas pruebas se utilizan dos alternativas para probar el equilibrio de la ley de Hardy-Weinberg, las pruebas de bondad de ajuste de chi-cuadrada (χ^2), y las pruebas exactas de Haldane (Miller, 2000), considerando la alternativa de agrupar el análisis del genotipo en las categorías de homocigotos y heterocigotos para el alelo más común.

Aunque se presentan los resultados obtenidos por las tres alternativas se ha considerado que para los casos en los que solo existan agrupaciones en sitios de dos alelos, la prueba exacta de Haldane es la que produce la verdadera probabilidad.

Se utilizaron los algoritmos de la cadena de Markov y el método convencional de Monte Carlo con el llamado algoritmo de Metrópolis, con el propósito de establecer una aproximación entre los datos originales y nuevos juegos de datos elaborados al azar.

UPGMA

Se utilizó este método por medio del análisis de Bootstrapping para obtener dendogramas de los resultados de las distancias genéticas y de ellos efectuar inferencias de las relaciones posibles entre los sitios analizados (Sokal y Rohlf, 1995).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante el desarrollo de la electroforesis de los sistemas enzimáticos utilizados, aspartato aminotransferasa (AAT), isocitrato deshidrogenasa (IDH) y octopino deshidrogenasa (OPDH) en tejidos de músculo y gónada de las localidades: Isla Mujeres, Punta Allen y Banco Chinchorro, se pueden observar en la Tabla I. El signo (✓) indica la presencia o el revelado de la isoenzima en los tejidos estudiados de las tres localidades.

Tabla 1. Relación de los sistemas enzimáticos utilizados y detectados en las poblaciones del caracol reina *Strombus gigas* (L) de las costas de Quintana Roo, México.

Enzimas	Sistemas Enzimaticos					
	Isla Mujeres		Localidades Punta Allen		Banco Chinchorro	
	Músculo	Gónada	Músculo	Gónada	Músculo	Gónada
Aspartato aminotransferasa AAT (EC 2.6.1.1)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Isocitrato deshidrogenasa IDH (EC 1.1.1.42)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Octopino deshidrogenasa OPDH (EC 1.5.1.15)	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Los resultados de las frecuencias génicas obtenidas de los sistemas enzimáticos en *S. gigas* se observan en la Tabla 2. Y los patrones electroforéticos de estas isoenzimas en los tejidos de músculo y gónada al parecer resultan de la expresión de seis loci, cinco monomórficos: AAT 1, AAT 2, IDH, OPDH 1 y OPDH 3 y uno polimórfico: OPDH 2, de acuerdo al criterio establecido de que si la frecuencia del alelo más común era menor o igual al 95 %. Los seis loci fueron utilizados para el análisis poblacional, independientemente de que si los loci eran o no polimórficos.

Tabla 2. Relación de las frecuencias génicas de los sistemas enzimáticos revelados en *Strombus gigas* (L)

Frecuencias Genicas de los Sistemas Enzimaticos Revelados en <i>Strombus gigas</i> (l)							
Localidades							
Isla Mujeres Punta Allen Banco Chinchorro							
Tejidos							
LOCUS	ALELO	M	G	M	G	M	G
AAT 1 MONOMERO	100	1	1	1	1	1	1
AAT 2 MONOMERO	100	1	1	0	0	1	1
IDH MONOMERO	100	1	0	0	0	1	1
OPDH 1 MONOMERO	100	1	1	1	1	1	1
OPDH 2 MONOMERO	100/90	27 14	1	41 7	39 9	14 17	39 11
OPDH 3 MONOMERO	90/100	9 0	9 0	2 0	2 1	11 0	0 1

M =músculo y G = gónada

Los resultados obtenidos en gónada del análisis estadístico descriptivo poblacional para cada uno de los tres sitios analizados, teniéndose un total de seis loci para cada una de las diferentes localidades: Isla Mujeres, Punta Allen y Banco Chinchorro se observan en las Tablas 3-5.

Los resultados de heteocigosis, heterocigosis insesgada y heterocigosis directa fueron mayores para OPDH 2 con 0.2262, 0.2285 y 0.1800 respectivamente mientras que los valores de cero los presentaron los locus AAT 1, AAT 2, IDH, OPDH 1 y OPDH 3 (Tabla. 4).

Tabla 3. Estadística descriptiva poblacional para gónada de *Strombus gigas* en Isla Mujeres

Locus	Alelo	Observaciones	Frecuencia Alélica
AAT 1	1	100	1.0000
AAT 2	1	100	1.0000
IDH	0	0	0.0000
OPDH 1	1	100	1.0000
OPDH 2	1	100	1.0000
	2	0	0.0000
OPDH 3	0	0	0.0000

Nota: Los valores de Heterocigosis fueron de cero para todos los loci

Tabla 4. Estadística descriptiva poblacional para gónada de *Strombus gigas* en Punta Allen.

Locus	Alelo	Observaciones	Frecuencia	No. de	Frecuencia
			Alélica	Heterocigotos	Heterocigotos
AAT 1	1	100	1.0000	0	0.0000
AAT 2	1	100	1.0000	0	0.0000
IDH	1	100	1.0000	0	0.0000
OPDH 1	1	100	1.0000	0	0.0000
OPDH 2	1	87	0.8700	9	0.1800
	2	13	0.1300	9	0.1800
OPDH 3	1	100	1.0000	0	0.0000

Tabla 5. Estadística descriptiva poblacional para gónada de *Strombus gigas* en Banco Chinchorro.

Locus	Alelo	Observaciones	Frecuencia	No. de	Frecuencia
			Alélica	Heterocigotos	Heterocigotos
AAT 1	1	100	1.0000	0	0.0000
AAT 2	1	100	1.0000	0	0.0000
IDH	1	100	1.0000	0	0.0000
OPDH 1	1	100	1.0000	0	0.0000
OPDH 2	1	89	0.8900	11	0.2200
	2	11	0.1100	11	0.2200
OPDH 3	1	100	1.0000	0	0.0000

Los resultados de heterocigosis para Banco Chinchorro revelándose que la OPDH 2 con 0.1958, 0.1978 y 0.2200 presenta los mayores valores y los valores de cero para todos los demás locus.

El análisis global de la estadística descriptiva poblacional de todos los loci que presentaron variación en todas las poblaciones se presenta en la Tabla 6, en donde la OPDH 2 presentó los mayores valores de heterocigosis con 0.1472, heterocigosis incesgada con 0.1477 y de heterocigosis directa con 0.1333, mientras que los menores valores de heterocigosis con cero se presentaron en los demás loci restantes.

Los resultados promedio de los valores de heterocigosis, así como los de polimorfismo en sus tres formas diferentes y los valores globales se presentan en la Tabla 7. El valor de heterocigosis global para las tres poblaciones estudiadas fue de 0.0245.

Los valores de polimorfismo (Tabla 7) con el criterio del 95 %, nos indican valores de 0.0000 para Isla Mujeres, Punta Allen 16.66 %, Banco Chinchorro, 16.66 % y un valor global del 16.66 % en todas las poblaciones.

Tabla 6. Estadística descriptiva poblacional para gónada de *Strombus gigas* en todas las poblaciones sobre los loci.

Locus	Alelo	Observaciones	Frecuencia Alélica	No. de Heterocigotos	Frecuencia Heterocigotos
AAT 1	1	300	1.0000	0	0.0000
AAT 2	1	300	1.0000	0	0.0000
IDH	1	200	1.0000	0	0.0000
OPDH 1	1	300	1.0000	0	0.0000
OPDH 2	1	276	0.9200	20	0.1333
	2	24	0.0800	20	0.1333
OPDH 3	1	200	1.0000	0	0.0000

Las desviaciones de los valores de Equilibrio de la Ley de Hardy-Weinberg se probaron mediante dos métodos conocidos como Pruebas de Bondad de Ajuste de Chi-Cuadrada (χ^2). Los resultados de la Prueba de Chi-Cuadrada para Isla Mujeres se encontró que todos los locus presentaron significancia en sus resultados, mientras que para Punta Allen los loci AAT 1, AAT 2, IDH, OPDH 1 y OPDH 3, se apartaron del equilibrio. En tanto que en Banco Chinchorro los locus AAT 1, AAT 2, IDH, OPDH 1 y OPDH 3 son los únicos que se apartaron del equilibrio, es decir que presentan significancia al comparar los resultados de los valores de los organismos observados contra los esperados. Los loci que presentaron significancia en la mayoría de las poblaciones o bien se apartan del equilibrio resultaron ser AAT 1, AAT 2, IDH, OPDH 1 y OPDH 3.

Tabla 7. Resultados de la estadística descriptiva para todas las poblaciones de *Strombus gigas*.

Parametro	Banco Chinchorro	Isia Mujeres	Punta Allen	Global
Tamaño Promedio de Muestra	50	50	50	133.3333
Heterocigosis Promedio	0.0326	0.0000	0.0377	0.0245
Heterocigosis Promedio Insegada	0.0330	0.0000	0.0381	0.0246
Heterocigosis Promedio Directa	0.0367	0.0000	0.0300	0.0222
% Loci Polimorficos sin Criterio	16.6667	0.0000	16.6667	16.6667
% Loci Polimorficos 99%	16.6667	0.0000	16.6667	16.6667
% Loci Polimorficos 95%	16.6667	0.0000	16.6667	16.6667

Una medida promedio de la posible deficiencia de heterocigotos a través de los seis loci, es con la prueba de F_{st} de Wright o mejor conocida como coeficiente de entrecruzamiento o consanguinidad entre cada población, se presenta en la Tabla 8 como f y nos indica que existe una dispersión o heterogeneidad en sus resultados dentro de las poblaciones al presentar valores que van desde 0.0622 para OPDH 2 hasta los no registrados en AAT 1, AAT 2, IDH, OPDH 1 y OPDH 3, y un valor promedio de 0.0622, considerando que los valores positivos de F_{st} de Wright indican una deficiencia de heterocigotos.

El índice de fijación, F_{st} (Φ) o también conocido como medida de variación entre las poblaciones (Tabla 8), nos presenta un valor promedio de 0.0551. Este valor de fijación se puede considerar bajo, pero según Hartl (1980) cae dentro del rango de valores de 0.05 a 0.15 para poder considerar a las poblaciones con un nivel de diferenciación bajo.

Con los resultados anteriores se estableció un nivel de flujo de genes al poder estimar en función de la ecuación de Reynolds et al., (Slatkin 1985) $Nm = (1/F_{st} - 1)/4$ y el índice de fijación, F_{st} , el número de migrantes por generación, que en este caso fue de 4.29.

La divergencia genética se analizó utilizando modelos, tanto de distancia como de identidad, y cuyos resultados se expresan en la Tabla 9. Todas las poblaciones son comparadas de manera pareada. De los valores obtenidos de distancia, los establecidos por el modelo original de Nei (1972) resultaron ser los más bajos en todas las poblaciones y los de distancia establecida con el modelo de Rogers modificado por Wright los mayores.

Tabla 8. Resultados de estadístico Fst de Wright para gónada de *Strombus gigas*.

Loci	Alelo	F	F	f
AAT 1	1	****	****	****
	Alelos totales	****	****	****
AAT 2	1	****	****	****
	Alelos totales	****	****	****
IDH	1	****	****	****
	Alelos totales	****	****	****
OPDH 1	1	****	****	****
	Alelos totales	****	****	****
OPDH 2	1	0.1139	0.0551	0.0622
	2	0.1139	0.0551	0.0622
	Alelos totales	0.1139	0.0551	0.0622
OPDH 3	1	****	****	****
	Alelos totales	****	****	****
TODOS LOS LOCI		0.1139	0.0551	0.0622

**** No hubieron valores

Tabla 9. Distancia e identidades de gónada en *Strombus gigas*.

Fuente	Relacion De Poblaciones		
	1-2	1-3	2-3
Distancia Original de Nei 1972	0.0028	0.0001	0.0039
Identidad Original de Nei 1972	0.9972	0.9999	0.9961
Distancia Insegada de Nei 1978	0.0025	-0.0003	0.0036
Identidad Insegada de Nei 1978	0.9975	1.0003	0.9964
Distancia Original de Roger 1972	0.0275	0.0033	0.0325
Distancia de Roger modificada por Wright	0.0550	0.0082	0.0650

POBLACIONES: 1. Isla Mujeres, 2. Punta Allen y 3. Banco Chinchorro

Las relaciones jerárquicas entre todas las poblaciones basadas en los diferentes modelos de determinación de distancias genéticas se efectuaron mediante un sencillo análisis de Cluster UPGMA o Dendograma (Ward y Andrews 1995).

En la Figura 3, se observa el Dendograma obtenido del análisis de Cluster, utilizando el modelo de distancia original de Nei 1972 (Tabla 10) en el cual el máximo valor de distancia fue de 0.0034 presentándolo el nodo que relaciona a las poblaciones de Punta Allen-Isla Mujeres-Banco Chinchorro y el menor valor lo presentó el nodo de Isla Mujeres-Banco Chinchorro con 0.0001.

Tabla 10. UPGMA Cluster de gónada en *Strombus gigas* usando la distancia original de Nei (1972).

Nodo	Distancia	Poblaciones		
		1	2	3
1	0.0001	1	3	
2	0.00034	1	2	3
Nodo	Proporción de réplicas similares			
1	0.6690			
2	1.0000			
Nodo	Número de Loci soportando el nodo	Porcentaje del Loci soportando el nodo	Porcentaje del Loci usables soportando el nodo	
1	1	16.67%	25.00%	
2	4	66.67%	100.00%	

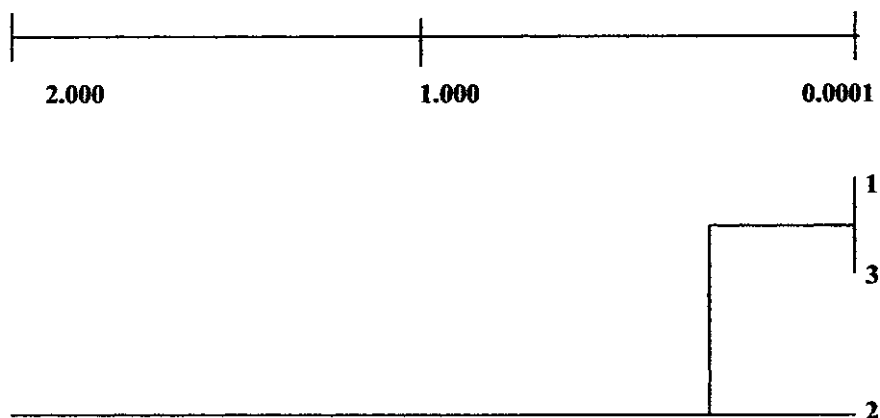


Figura 3. UPGMA Dendrograma de afinidad genética entre las poblaciones del caracol reina *Strombus gigas* en las localidades de: Isla Mujeres (1), Punta Allen (2) y Banco Chinchorro (3), basado en las frecuencias alélicas de AAT 1, AAT 2, IDH, OPDH 1, OPDH2 y OPDH 3.

Los resultados provenientes de los extractos de tejido muscular no aportaron datos suficientes que puedan ser utilizados como marcadores genéticos diferenciales de las tres poblaciones estudiadas en las costas de Quintana Roo.

DISCUSIÓN

Strombus gigas es un molusco gasterópodo de significativa importancia económica en el área del mar Caribe y cuya fase de vida planctónica le permite tener un gran rango de dispersión en esta región, lo cual al mismo tiempo implica un gran

problema a la hora de determinar la posición geográfica de sus poblaciones, el origen y patrón de dispersión de las mismas (Campton, et al. 1992).

Los resultados obtenidos en este estudio, son muy similares a los reportados por Berg et al. (1986), quienes analizaron amplios rangos de localidades en el Atlántico incluyendo la región del Caribe, utilizando como marcador genético a las isoenzimas, encontraron que las poblaciones del Caribe son poblaciones homogéneas y solo la población de Bermudas se diferencia de las demás poblaciones del Caribe.

Las tres poblaciones de *Strombus gigas* analizadas en las costas de Quintana Roo presentan una baja variabilidad y poca diferenciación geográfica entre ellas; el porcentaje de polimorfismo global en gónada es relativamente bajo 16.66 %, si se compara con el 58 % en promedio para invertebrados marinos (Saavedra et al. 1993).

Estos bajos niveles de variabilidad pueden tener diversos orígenes o causas desde el poder considerar que sea una causa intrínseca de la especie o bien deberse a historia de vida de los organismos y a niveles de explotación de las poblaciones en el área, así como a un posible bajo número del tamaño de muestra utilizado o bien a errores de interpretación en la resolución o conteo de las frecuencias génicas expresadas en los geles (Heist et al. 1995).

Los valores de heterocigosis promedio para la gónada (0.0245), 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 de invertebrados marinos (Mamuris et al. 1998, Boisselier-Dubayl et al. 1999) aunque las características reproductoras de muchas de esas especies reflejen el clásico modelo panmictico de las poblaciones genéticas (Bierley et al. 1996) y que pudiendo concluir que los bajos niveles de heterocigotos pueden ser debidos a: una mezcla de poblaciones (Efecto Wahalund), varios tipos de selección, la presencia de alelos nulos o la pérdida de cromosomas causando estimaciones incorrectas de las fracciones fenotípicas (Creasey et al., 1996), fuerzas estocásticas y deterministas que conllevan a la configuración génica de cada población, tal es el caso de los procesos de mutación, migración, selección natural y deriva génica o a otros factores, tales como que cada muestra haya incluido individuos provenientes de sólo algunas fracciones de la población, favorecidas en las primeras etapas de vida por la oportunidad de factores ambientales que les hayan permitido mayor supervivencia. El grado de participación de cada una de ellas puede ser diferente, ya que es función de la biología de la especie, su posible origen geográfico o, sus preferencias térmicas (Trujillo et al. 1995). En el caso de *Strombus gigas* los bajos valores de F_{st} entre las poblaciones nos indica que no se puede considerar el efecto Wahalund como la causa de este fenómeno, aunque se mantiene la idea de que existe la entrada de migrantes en las poblaciones (4.29).

Las larvas de *S. gigas*, según estudios efectuados acerca de su permanencia en el plancton y su consecuente dispersión, pueden permanecer hasta veintiocho días en la columna del agua (Campton, et al. 1992) si encuentran las condiciones adecuadas para lograr su proceso de metamorfosis, lo cual les permite ser transportadas a lo largo de todo el mar Caribe y que en función del número de

migrantes obtenidos en este estudio se puede pensar en el proceso de flujo de genes a través del Caribe y sugiriendo con esto que las larvas de *S. gigas* al tener ese amplio rango de dispersión se propicia que la estructura poblacional, y las poblaciones que se encuentran en el área de influencia, sea relativamente común y se tenga una esperada variación genética entre las poblaciones, que va de acuerdo a los resultados de trabajos efectuados en la zona con este organismo (Mitton et al. 1989, Campton et al. 1992).

Los resultados obtenidos del flujo de genes, mediante el análisis de Chi-cuadrada (χ^2) y la prueba de Haldane nos indica que sólo un mínimo de loci son significativamente diferentes.

Los valores de distancia e identidad para *S. gigas* en gónada nos indican que son valores típicos para especies o poblaciones que se encuentran bien mezcladas. Los altos valores de identidad, así como los similares y bajos de distancia genética son comunes para especies con vida planctónica de gran dispersión, similares a *S. gigas*.

El análisis de agrupamiento o UPGMA Cluster de gónada en *Strombus gigas* usando la distancia original de Nei, muestra una ligera separación, no tan significativa entre los fenotipos encontrados en las poblaciones de Punta Allen con las de Isla Mujeres y Banco Chinchorro. El cambio se tiene al efectuar el análisis en tejidos diferentes; los resultados provenientes de los extractos de tejido muscular no aportaron datos suficientes que puedan ser utilizados para diferenciar poblaciones de *S. gigas*, en gónada la población que presenta una baja separación o distancia respecto a las otras es Punta Allen. Esta baja separación de las poblaciones aparentemente no tienen lógica ya que la corriente del mar Caribe al ser ascendente hacia el norte y pasar por el canal de Yucatán debe de propagar la dispersión de las larvas de *S. gigas* presentes en la columna de agua, lo que se esperaría que las poblaciones sean homogéneas y no considerar a la población de Punta Allen como una población separada o alopatrica.

No obstante, variaciones estocásticas en la corriente de agua, los vientos de superficie, eventos meteorológicos, disponibilidad de alimento, temperatura, concentración de oxígeno y aún remolinos localizados podrían afectar la dispersión de las larvas y modificar el reclutamiento de estas en localidades particulares, Bucklin et al. (1989) corroboraron y concluyeron que tales eventos pueden mantener el estado de discreción de las poblaciones en forma espacial o temporalmente, lo que a final de cuentas evita la homogenización del plancton durante el transporte y si consideramos el hecho de que en Punta Allen se tiene la presencia de la bahía de la Ascensión, lo que representa un hábitat restringido a cuerpos de agua semicerrados, permitiendo el asentamiento de larvas y su posterior aislamiento que a fin de cuentas nos de la pauta para establecer la diferenciación y valores de distancia de esta población con las otras analizadas.

Se considera necesario realizar un estudio más amplio, en el que se ensaye con mayor número de poblaciones (localidades) y loci de *Strombus gigas*, para tener un panorama más completo de la estructura y variabilidad genética de tales poblaciones.

CONCLUSIONES

La variabilidad genética intrapoblacional y la diferenciación genética interpoblacional del caracol reina *Strombus gigas* en las costas de Quintana Roo (Punta Allen, Isla Mujeres y Banco Chinchorro) estimados a partir del número de isoenzimas presentes en el genoma de cada tejido, permitieron establecer una sola población en el Caribe Mexicano.

La baja heterocigocidad detectada y la poca diversidad genética encontrada dentro de las poblaciones puede ser atribuida a limitaciones en el tamaño efectivo de la población y a otros factores como los ambientales y oceanográficos.

Punta Allen mostró más diversidad genética que las otras dos poblaciones; en cuanto al flujo y a la distancia genética también permitieron establecer la diferencia entre esta población con las de Isla Mujeres y Banco Chinchorro, sin embargo, cabe mencionar que los resultados obtenidos de esta población no son lo suficientemente significativos como para pensar que esta sea una población aislada o alopátrica.

Los resultados obtenidos de las isoenzimas provenientes de los extractos de tejido muscular no aportaron datos suficientes que puedan ser utilizados como marcadores diferenciales de la especie *S. gigas* en las tres poblaciones estudiadas de las costas de Quintana Roo.

La poca diferencia existente entre las poblaciones de Punta Allen con las de Isla Mujeres y Banco Chinchorro, apoyada en los 6 loci examinados fue baja, en función de los valores de F_{st} de Wright y de la distancia genética. Esta baja o nula diferenciación entre las poblaciones se debe en muchas ocasiones a la dirección de las corrientes marinas provenientes del Mar Caribe que se introducen al Golfo de México a través del Canal de Yucatán.

Es probable que este patrón de flujo de agua mantenga las frecuencias alélicas y genotípicas similares o muy cercanas entre sí.

Las corrientes han sido uno de los parámetros más importantes para establecer la diferenciación genética en las poblaciones marinas, en el caso de las poblaciones de *Strombus gigas* analizadas en el presente trabajo, el número de migrantes en las poblaciones aunque resultó ser muy bajo, nos indica que sí existe un flujo de genes y que las poblaciones se encuentran relativamente homogéneas.

Se concluye que tanto los procesos estocásticos como de selección natural son posiblemente los que más contribuyen a la homogenización o diferenciación entre las poblaciones de *S. gigas* analizadas en el presente trabajo, permitiendo a las autoridades pesqueras, considerar en sus planes de lineamientos y estrategias de manejo a dicho recurso, como una sola población para el Caribe Mexicano; así como contribuir a resolver problemas de maricultura: en el manejo, cosecha y repoblación de esta especie.

LITERATURA CITADA

- Allendorf, F.W. and F. M. Utter. 1979. Population genetics. Pages 407-454 in: Hoar, W.S., D.J. Randall, and J.R. Brett (eds.). *Fish Physiology VIII*. Academic Press, Inc., New York, New York USA. 786 pp.

- Allendorf, F.W., N. Ryman, and F.M. Utter. 1987. Genetics and fishery management: Past, present and future. Pages 1-19 in: Ryman, N. and F. Utter, (eds.). *Population Genetics And Fishery Management*. University of Washington Press, Seattle, Washington USA. 420 pp.
- Ayala, F.J. 1983. Genetic Polymorphism: From electrophoresis to DNA sequences.. *Experientia*. Birkhauser Verlag CH-4010 Basel/ Switzerland. 39:813-823.
- Berg, C.J. Jr., J. B. Mitton, and K.S. Orr. 1986. Genetic analyses of the queen conch, *Strombus gigas* L. Preliminary implications for fisheries management. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 37:12-118.
- 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. J. 1970. *An Introduction to Isozymes Techniques*. Academic Press, New York, New York USA. 186 pp.
- Brewer, J.M., A.J. Pesce, and R.B. Ashworth. 1974. *Experimental Techniques in Biochemistry*. Prentice-Hall, Inc. 5:128-159.
- 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.
- Campton, D.E., C.J. Berg Jr., L.M. Robinson, and R.A. Glazer. 1992. Genetic patchiness among populations of queen conch *Strombus gigas* in the Florida Keys and Bimini. *Fishery Bulletin* 90(2):250-259.
- 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.
- Cushing, D.H. 1968. *Fisheries Biology. A Study In Population Dynamics*. University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin USA. 200 p.
- Ferris, D.S. and G.S. Whitt. 1979. Evolution of the differential regulation of duplicate genes after polyploidization. *Journal of Molecular Evolution* 12:267-317.
- Gauldie, R.W. 1991. Taking stock of genetic concepts in fisheries management. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48:722-731.
- Grijalva, J.M. 1995. *Análisis Genético Poblacional del Pez Espada (Xiphias Gladius) en el Oceano Pacifico*. Tesis Doctoral. CICESE, Ensenada. 87 pp.
- Hames, B.D. and D. Rickwood. 1986. *Gel electrophoresis of proteins, a practical approach*. 5^a Ed. IRL Press, London, England. 287 pp.
- Hamrick, J.L. 1989. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. *Isozymes In Plant Biology* 4(4):87-105.
- Hartl, D.L. 1980. *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts USA. 350pp.

- Harris, H. and D.A. Hopkinson. 1978. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. American Elsevier, New York, New York USA. 306 pp.
- Haylor, G.S., Thorpe, J.P., and M.A. Carter. 1984. Genetic and ecological differentiation between sympatric colour morphs of the common intertidal sea anemone *Actinia equina*. *Marine Ecology Progress Series* 16:281-289.
- 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.
- Horrall, R.M. 1981. Behavioral stock-isolating mechanisms in Great Lakes fishes with special reference to homing and site imprinting. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38:1481-1496.
- Ihssen, P.E., H.E. Booke., J.M. Casselman., J.M. McGlade., N.R. Payne, and F.M. Utter. 1981. Stock identification: materials and methods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38:1838-1855.
- Kirpichnikov, V.S. 1981. *Genetic Bases of Fish Selection*. Springer berlag. Berlin. Heidelberg. New York, New York USA. 225 pp.
- Kutkuhn, J.H. 1981. Stock definition as a necessary basis for cooperative management of Great Lakes fish resources. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38:1476-1478.
- Lu, T.T. and S.L. Williams. 1994. Genetic diversity and genetic structure in the brown alga *Halidrys dioica* (Fucales: Cystoseiraceae) in Southern California. *Marine Biology* 121:363-371.
- MacLean, J. A. and D. O. Evans. 1981. The stock concept, discreteness of fish stocks and fisheries management. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1889-1898 pp.
- 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.
- McMillen, J.A. L., T.M. Bert, and P. Steele. 1994. Population genetics of the blue crab *Callinectes sapidus*: modest population structuring in a background of high gene flow. *Marine Biology* 118:53-65.
- Miller, M. 2000. TFPGA, a windows program for the analyses of allozyme and molecular population genetic data. Version 1.3. Dept. of Biological Sciences. Northern Arizona University.
- Mitton, J.B., C.J. Berg Jr., and K.S. Orr. 1989. Population structure, larval dispersal, and gene flow in the queen conch, *Strombus gigas*, of the Caribbean. *Biological Bulletin of the Marine Biological Laboratory*. Woods Hole, Massachusetts USA. 177(3):356-362.
- Quijano, F.A. 1988. The queen conch (*Strombus gigas*) resource in the Mexican Caribbean. *Los Recursos Pesqueros del País*. 497-511 pp.
- Rodríguez, L.A. 1994. Análisis de la evolución de la pesquería del caracol en dos estados de la Península de Yucatán, México y en una cooperativa de pescadores. I Congreso Latinoamericano de Malacología. Fundación Científica Los Roques, Venezuela. 113-136 pp.
- Royce, W.F. 1984. *Introduction to the Practice of Fishery Science*. Academic

- Press, Inc. San Diego, California USA. 428 pp.
- Ryman, N. 1981. Fish gene pools. *Ecological Bulletin* 34:111.
- 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.
- 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 Laboratories. Report 177. Melbourne. Australia. 59 pp.
- Shaw, R.Ch. and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochemical Genetics* 4:297-320.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:393-430.
- Sobel, J.A., S.E. Siddall and D.P. Phillipp. 1988. Population genetic analysis of the queen conch, *Strombus gigas*, in Belize, Central America. *Journal of Shellfish Research* 7(1):177-184.
- Sokal, R.R. and F.J. Rohlf. 1995. *Biometry*. W. H. Freeman, San Francisco, California USA.
- Tello, J.A. 1986. Patron tisular para esterases y proteínas de *Cichlasoma urophthalmus* (Gunter). M. Sc. Tesis. CINVESTAV-Mérida, Mexico. 47 pp.
- Trujillo, A.O., R.S. Burton., J. De la Rosa. y F. S. Correa. 1995. Variación genética en dos poblaciones del copépodo calanoide marino *Acartia californiensis* Trinast. *Ciencias Marinas*. 21(1):39-58.
- Towsend, D.R. and R.S. Shing. 1984. Genetic variation for a monomer and dimer equilibria of esterase 5 in *Drosophila pseudoobscura*, *D. permisisilis* and *D. miranda*. *Canadian Journal of Genetic Cytology* 28:374-381.
- Utter, F.M. 1991. Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. *Journal of Fish Biology* 39(A):1-20.
- Ward, R.D. and J. Andrews. 1995. Population genetics of the northern pacific sea star *Asterias amurensis* (Echinodermata: Asteroidea) allozyme differentiation among Japanese, Russian, and recently introduced Tasmanian populations. *Marine Biology* 124: 99-109.
- Weir, B.S. 1990. *Genetic Data Analysis. Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates, Inc Sunderland, Massachusetts USA. 377 pp.
- Williams, S.T. and J.A.H. Benzie. 1996. Genetic uniformity of widely separated populations of the coral reef starfish *Linckia laevigata* from the East Indian and West Pacific Oceans, revealed by allozyme electrophoresis. *Marine Biology* 126:99-107.
- Wirgin, I.I. and J.R. Waldman. 1994. What DNA can do for you. *Fisheries* 19:16-27.
- Wright, S. 1978. *Evolution and Genetics of Populations. Variability Within and Among Natural Populations*. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois USA 580 pp.