

DIFERENCIACION GENETICA POBLACIONAL EN *CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS* (BRUGUIERE, 1789) (GASTROPODA, MURICIDAE) EN SU AREA DE DISTRIBUCION CENTRO-NORTE

POPULATION GENETIC DIFFERENTIATION OF *CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS* (BRUGUIERE, 1789) (GASTROPODA, MURICIDAE) IN THEIR CENTRAL-NORTHERN RANGE OF GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION

Ricardo Guíñez ¹, María V. Gómez ¹ y Juan C. Castilla ¹

RESUMEN

Se estudió la estructura genética poblacional de *Concholepas concholepas* en 11 sitios dentro de 6 localidades ubicadas entre la costa central chilena y el sur del Perú, mediante electroforesis horizontal en gel de almidón. El análisis genético realizado sobre la base de 3 loci polimórficos y las distancias genéticas estimadas sugieren que las localidades estudiadas no forman una unidad panmictica. Los componentes de variación "entre localidades" y "entre agregados de áreas geográficas disjuntas" explican más del 89% de la heterogeneidad. Adicionalmente se comunica la variación genética mantenida por la especie sobre la base de 17 loci. La información genética obtenida debe ser considerada para el ordenamiento del manejo pesquero de las poblaciones explotadas y de los estudios ecológicos de la especie.

Palabras claves: Locos, discriminación de stock, estructura genética, variación genética, molusco.

ABSTRACT

The genetic population structure of *Concholepas concholepas* was studied at 11 sites belonging to 6 localities from the Central coast of Chile to the South of Perú, by means of horizontal starch gel electrophoresis. Genetic distances based on genetic data from three polymorphic loci suggest that localities studied do not form one panmictic population. The between localities and between three cluster of disjunct geographical areas components explain more than 89% of the genetic heterogeneity. The genetic variation based on 17 loci is given. The information obtained must be taken into account in the management of exploited natural populations, and ecological studies of the species.

Key words: Chilean abalone, stock discrimination, genetic structure, genetic variation, mollusc.

INTRODUCCION

El manejo de la pesca y el desarrollo de la acuicultura requieren de la comprensión de los principios biológicos subyacentes de toda especie recurso. Es indudable que el conocimiento

de los aspectos ecológicos y de historia natural de los recursos marinos ha sido predominante para ser utilizado como base en las decisiones de regulación y ordenamiento de su explotación (Allendorf *et al.*, 1987). Sin embargo, se ha dirigido poca atención a los aspectos genéticos

¹Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.
* Dirección actual: División Acuicultura Instituto de Fomento Pesquero, Casilla 1037, Puerto Montt, Chile.

de las especies recursos (Allendorf *et al.*, 1987, Naciones Unidas, 1980).

El objetivo de este trabajo es realizar un aporte al conocimiento genético del molusco "loco", *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789), en su contexto geográfico que pueda ser de utilidad en el ordenamiento de su manejo pesquero.

Las especies de moluscos, como la mayoría de los organismos acuáticos y terrestres, no se estructuran como una población homogénea continua, sino más bien están conformadas por un conjunto de poblaciones que pueden ocupar diferentes áreas geográficas con estructuras demográficas y genéticas específicas (Spanakis *et al.*, 1989). En efecto, una especie puede estar conformada por una serie de poblaciones, "comunidades reproductivas de individuos que comparten acervos genéticos particulares" (Dobzhansky, 1950) o como "unidades genéticamente autosustentables" (Anon., 1976, Yablokov, 1986), que pueden ser consideradas como unidades de manejo o "stocks" biológicos (Richardson *et al.*, 1986). La cohesión y evolución independiente de estas unidades, de acuerdo a la teoría genético poblacional, es altamente dependiente de los niveles de migración, o flujo génico, de tal modo que la diferenciación genética entre poblaciones puede producirse y perpetuarse, sólo si la tasa de intercambio de individuos o larvas entre ellas está fuertemente restringida (Hartl & Clark, 1989).

En consecuencia, en las bases biológicas del manejo de "stocks" de una especie recurso debe incluirse el conocimiento de su estructura geográfica genético poblacional, área que aparece como crítica tanto para el manejo de las especies recursos marinas como para permitir comprender sus procesos evolutivos.

El loco, *C. concholepas*, es un gastrópodo muricido de importancia económica que se distribuye en la costa occidental y extremo sur de Sudamérica, desde la altura de Callao (Perú) hasta el Cabo de Hornos, incluyendo las islas de Juan Fernández (Stuardo, 1979). En Chile no se han publicado estudios genéticos poblacionales de *C. concholepas*, realizados a escala geográfica, utilizando metodologías adecuadas. En este trabajo analizamos un conjunto de muestras del área centro norte de su distribución.

C. concholepas presenta dos fases en el ciclo de vida; una de ellas corresponde al de una larva

planctónica pelágica (Gallardo, 1979) y la otra, a una fase juvenil adulta que se inicia en el momento de su asentamiento al litoral costero (Oliva & Castilla, 1990), y que al ser de hábito bentónico presenta una escasa movilidad en relación a la de la larva. En consecuencia, la larva pelágica es el principal vehículo de intercambio genético entre localidades geográficamente alejadas, por lo que la capacidad de dispersión efectiva de las larvas juega un rol fundamental en determinar la estructura geográfica poblacional al interior del rango de distribución de la especie.

Existen tres hipótesis generales sobre la estructuración geográfica de una especie: (HO) Panmíctica, (H1) Aislamiento por distancia y (H2) de Poblaciones geográficamente estructuradas (Richardson *et al.*, 1986). En una especie como *C. concholepas*, que se distribuye como juvenil y adulto en un hábitat de disposición lineal como el litoral costero, y cuyo agente de flujo génico está representado por una larva pelágica, estas hipótesis se pueden expresar sobre la base de dos posibles situaciones: (A) La existencia de barreras o situaciones oceanográficas que limiten severamente el flujo génico, y (B) La probabilidad de que una larva nacida en un extremo de la distribución de la especie sea transportada al otro extremo, donde puede asentarse y reproducirse como adulto.

La hipótesis panmíctica (HO), que corresponde a nuestra hipótesis nula, predice que si (A) es falsa y (B) es alta, entonces no debería producirse diferenciación geográfica al interior de la especie.

La hipótesis de Aislamiento por distancia (H1) predice que si (A) no es verdadera y (B) es cero (pudiendo ser transportadas a alguna distancia del lugar de origen), entonces la diferenciación genética entre dos localidades incrementa en forma proporcional a la distancia geográfica que las separa. Y la hipótesis de Poblaciones geográficamente estructuradas (H2), que predice que si (A) es verdadera y obviamente (B) es cero (limitada por A), entonces se esperan diferencias genéticas entre poblaciones con geografías acotadas.

Con el objetivo de poner a prueba la hipótesis Nula Panmíctica (HO), se diseñó un muestreo apropiado para evaluar los componentes de variación genética intra e interlocalidades de loci polimórficos, en el rango de la distribución

Centro-Norte de *C. concholepas*, para lo cual fue necesario previamente estandarizar las técnicas genéticas electroforéticas en *C. concholepas* y resolver los loci genéticos monomórficos y polimórficos para un conjunto de enzimas. Lo que permitió adicionalmente poder describir la variabilidad genética sustentada actualmente por la especie.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras utilizadas en este trabajo se obtuvieron del submareal rocoso en 11 sitios pertenecientes a 5 localidades costeras de Chile y 1 localidad del norte del Perú, durante los años 1990, 1991 y 1992 (Tabla 1). Mediante buceo se muestrearon individuos adultos de longitud peristomal mayor a 6 cm; éstos fueron trasladados vivos mediante transporte terres-

tre y aéreo al Laboratorio, donde se congelaron a -20°C hasta el momento de su respectivo procesamiento. Las muestras obtenidas en aguas chilenas fueron procesadas en el Laboratorio de Genética del Departamento de Ecología de la Pontificia Universidad Católica de Chile (Santiago, Chile), y aquéllas obtenidas en Perú lo fueron en el Laboratorio de Genética de la Facultad de Pesquerías y Acuicultura de la Universidad Nacional Federico Villarreal (Lima, Perú). Los sitios de muestreo, códigos, localidades, ubicación geográfica y fechas, se resumen en la Tabla 1.

Para el análisis electroforético de cada individuo se tomaron muestras de los siguientes tejidos: Pie, Manto, Hepatopáncreas y Branquias, que se homogeneizaron independientemente y se siguieron los procedimientos descritos por Guíñez & Galleguillos (1985) en la aplicación de la Electroforesis Horizontal en gel

Tabla 1. Localidades, sitios de muestreo, código de sitios, ubicación geográfica y fechas de muestreo (día/mes/año).

Localidad	Sitio	Código	Ubicación geográfica	Fechas de muestreo
Valdivia	Mehuín (Reserva)	VI	39°27' S; 73°10' W	271290 280291
Valparaíso	Caleta Quintay (Concesión)	Q1	33°10' S; 71°43' W	070990
Valparaíso	Caleta Quintay (Fuera de Concesión)	Q2	33°10' S; 71°27' W	240191 140291
Valparaíso	Caleta El Quisco (Concesión)	Q3	33°24' S; 71°42' W	290492
Coquimbo	Pichidangui	CI	32°08' S; 71°33' W	290492
Coquimbo	Los Vilos (Punta Lobos)	C2	31°57' S; 71°31' W	280492
Antofagasta	Caleta Coloso (Punta Jara)	AI	23°41' S; 70°27' W	100192
Antofagasta	Caleta Coloso (La Segunda)	A2	23°41' S; 70°27' W	100192
Iquique	Punta Cavanca	I1	20°14' S; 70°11' W	040592
Iquique	Punta Blanca	I2	20°14' S; 70°11' W	040592
Perú	Mollendo	P1	17°00' S; 72°04' W	010292

de almidón (12,5%, Connaught) Smithies (1955). Para los procedimientos de tinción y tampones utilizados (Tabla 2) se siguió a Schaal & Anderson (1974), Ahmad *et al.* (1977), Harris & Hopkinson (1978), Beaumont *et al.* (1980), Guíñez & Galleguillos (1985), Guíñez *et al.* (1986) y Richardson *et al.* (1986). Para cada locus resuelto, los alelos se representaron con las letras minúsculas, a, b, c..., asignándose la letra a al alelo con el mayor valor de frecuencia alélica en los sitios de Quintay y Mehuín, al alelo con la segunda mayor frecuencia se le asignó la letra b, y así, sucesivamente.

La muestra de Quintay, Q1 (Tabla 1), y parte de las muestras de Valdivia, V1 y de Quintay, Q2 (Tabla 1), se utilizaron para estandarizar las técnicas electroforéticas y determinar los tampones y tejidos en que las distintas enzimas podían ser resueltas (Tabla 2). Las muestras de Valdivia, V1 (Tabla 1) y de Quintay, Q2 (Tabla 1) se usaron para evaluar la variabilidad genética mantenida por *C. concholepas*, estimada sobre la base de 17 loci enzimáticos.

Para todas las muestras (Tabla 1) se trabajó con los loci polimórficos Octopina deshidrogenasa (ODH), leucin Aminopeptidasa (LAP) y Esterasa D-1 (ESTD-1), cuyos datos se analiza-

ron estadísticamente mediante el test de G (Sokal & Rohlf, 1981), que permite separar la heterogeneidad genética total de cada locus, en componentes jerárquicos de acuerdo a la estructura de los datos (e.g. componentes de heterogeneidad dentro y entre localidades).

Finalmente, se estimó la distancia genética insesgada de Nei (Nei 1978) sobre la base de las frecuencias alélicas de ODH, LAP y ESTD-1, para construir árboles de relación genética (fenogramas, Crisci & López, 1983) usando el algoritmo UPGMA (Sneath & Sokal 1973).

RESULTADOS

Se logró resolver un total de 17 loci para 14 enzimas, cuyo estado Polimórfico/Monomórfico se muestran en la Tabla 2, junto a los tejidos y tampones en que se obtienen.

Los estadísticos genéticos generales de Polimorfismo medio, Número medio de alelos y Heterocigosidad observada promedio son similares para las muestras de Quintay y Mehuín (Tabla 3). Sin embargo, para los loci polimórficos ODH, ESTD-1, CA y MDH-1 existen alelos presentes para una localidad y ausentes para la

Tabla 2. Enzimas estudiadas, procedimientos utilizados y número de loci Polimórficos (P) y Monomórficos (M) resueltos para *Concholepas concholepas*.

Enzimas	LOCI Abr.	E.C.	Tejido	Tampón	P	M
Aspartato aminotransferasa	AAT	2.6.1.1	Pi	D	0	1
Fosfatasa ácida	ACP	3.1.3.2	Pi	D	0	1
Anhidrasa carbónica	CA	4.2.1.1	Pi	D	1	0
Esterasa D	ESTD	3.1.1.1	Pi	D	1	1
Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa	G6PDH	1.1.1.44	He	E	0	1
Hexoquinasa	HK	2.7.1.1	Pi	D	1	0
Isocitrato deshidrogenasa	IDH	1.1.1.2	Br	B	0	2
Leucin Aminopeptidasa	LAP	3.4.11	Pi	A	1	0
Malato deshidrogenasa	MDH	1.1.1.37	Br	B	1	1
Octopina deshidrogenasa	ODH	1.5.1.11	Pi	D	1	0
Peptidasa	PEP	3.4.11.1	Ma,Pi	D	1	0
6-Fosfogluconato deshidrogenasa	6PGD	1.1.1.44	Pi	A	0	1
Glucosa Fosfato deshidrogenasa	GPI	5.3.1.9	Pi	A	1	0
Xantina deshidrogenasa	XDH	—	He	E	0	1
Total					8	9

Tejidos: Pi=Musculatura del Pie, Ma=Manto, Br=Branquia, He=Hepatopáncreas.
 Tampones: A= Tris Citric 5.1/6.0, B= Tris Citric 6.3/6.7, C=Tris Citric 7.0.
 D=Tris Citric 8.0, E= Tris Verseno Borato 9.1.

otra. Así, para la ODH el alelo c está sólo presente en Mehuín, y el alelo d sólo presente en Quintay. Para la ESTD-1 y CA, la muestra de Quintay presenta sólo el alelo a.

Los datos electroforéticos para los loci

Tabla 3. Frecuencias alélicas para los loci polimórficos y estadísticos generales en los Sitios Quintay y Mehuín.

Locus	Alelo	QUINTAY	MEHUIN
LAP	2N	(166)	(74)
	a	0.711	0.568
	b	0.289	0.432
	Ho	0.265	0.178
ODH	2N	(170)	(68)
	a	0.923	0.957
	b	0.065	0.059
	c	0.000	0.014
	d	0.012	0.000
Ho	0.129	0.088	
ESTD-1	2N	(66)	(50)
	a	1.000	0.974
	b	0.000	0.026
	Ho	0.000	0.053
CA	2N	(118)	(52)
	a	1.000	0.692
	b	0.000	0.269
	c	0.000	0.039
Ho	0.000	0.000	
MDH-1	2N	(14)	(12)
	a	0.571	0.917
	b	0.286	0.083
	c	0.143	0.000
Ho	0.000	0.167	
GPI-1	2N	(46)	(22)
	a	0.935	0.955
	b	0.065	0.045
	Ho	0.130	0.091
HK	2N	(28)	(12)
	a	0.821	0.500
	b	0.179	0.500
	Ho	0.214	0.333
PEP	2N	(50)	(74)
	a	0.711	*
	b	0.289	*
	Ho	0.263	*
Polimorfismo medio		37.5	33.3
No. Medio de Alelos		1.5	1.6
Ho promedio/loci		0.07	0.06

2N = Número de Genomas estudiados.

Ho = Heterocigosidad observada.

* = No resuelto.

polimórficos ODH, LAP y ESTD-1, se presentan en la Tabla 4 y el análisis de su heterogeneidad en la Tabla 5.

Los tres loci polimórficos presentan un mismo alelo común (a) que presenta sus menores frecuencias en los sitios del extremo norte (I1, I2 y P1, Tabla 4). Los alelos raros (poco frecuentes) no muestran un patrón de su presencia tan notable como el del alelo c de la ODH, que está presente sólo en la muestra de Mehuín. Lo anterior sugiere diferencias genéticas poblacionales entre el sur de Chile y las otras localidades centro norte.

Los tres loci presentan una heterogeneidad total (Gran total entre sitios) estadísticamente significativa (Tabla 5); sin embargo, para los loci ODH y LAP, el 4.8% y el 9.6% de esta heterogeneidad, respectivamente, es explicada por el componente intralocalidad, no siendo estadísticamente significativa. Por otra parte, para ambos loci un porcentaje estadísticamente significativo de la heterogeneidad, equivalente al 95.2% y al 90.4%, respectivamente, es explicada por la variación interlocalidades. Particularmente significativo es el caso de la ODH para el que se dispuso de datos de las costas del Perú.

Para el locus ESTD-1 la variación interlocalidades explicada baja al 50.3%, aunque al igual que los otros loci, es estadísticamente significativa. Sin embargo, también es estadísticamente significativo el componente intralocalidad. En este caso es destacable que las variaciones intralocalidades son estadísticamente significativas sólo para los sitios de Antofagasta y Valparaíso.

El análisis de heterogeneidad nos permite concluir que existe diferenciación genética estadísticamente significativa entre las 6 localidades consideradas en este trabajo. Para analizar objetivamente las relaciones de parentesco entre las localidades y discutir su agrupamiento en función de la ubicación geográfica, se estimaron las distancias genéticas de Nei entre las localidades, recalculando las frecuencias genéticas para los datos reagrupados por localidad, y se representaron mediante un fenograma (Figura 1a).

En el fenograma de la Fig. 1a se observan 3 agregados que son consistentes con la disposición geográfica de las localidades. El primer agregado incluye a la localidad de Iquique representando al Extremo Norte (EN) de la distri-

Tabla 4. Frecuencias alélicas para los loci polimórficos ODH, LAP y ESTD-1, y número de genomas (2N) muestreados en 11 sitios. Los códigos alfanuméricos corresponden a aquellos definidos en la Tabla 1, a, b y c representan alelos específicos, y o representa a alelos raros con frecuencias menores a 0.03.

Locus	SITIOS										
	M1	Q1	Q2	Q3	C1	C2	A1	A2	I1	I2	P1
ODH											
a	0.926	0.913	0.924	0.868	0.698	0.778	0.793	0.772	0.578	0.500	0.520
b	0.059	0.067	0.065	0.105	0.281	0.208	0.172	0.184	0.356	0.433	0.350
c	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
d	0.000	0.019	0.012	0.026	0.021	0.014	0.034	0.044	0.067	0.067	0.130
2N	68	104	170	38	96	72	116	114	90	30	50
LAP											
a	0.581	0.660	0.711	0.625	0.711	0.635	0.655	0.598	0.531	0.500	-
b	0.419	0.340	0.289	0.375	0.197	0.308	0.345	0.393	0.406	0.367	-
c	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053	0.019	0.000	0.009	0.052	0.033	-
d	0.000	0.000	0.000	0.000	0.039	0.038	0.000	0.000	0.010	0.100	-
2N	74	100	166	32	76	52	118	112	96	30	-
ESTD1											
a	0.975	0.909	1.000	0.825	0.920	0.903	0.909	0.800	0.844	0.833	-
b	0.025	0.091	0.000	0.175	0.060	0.069	0.091	0.190	0.115	0.167	-
c	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.028	0.000	0.010	0.042	0.000	-
2N	40	66	66	40	100	72	110	100	96	30	-

bución, el segundo que incluye a las localidades de Antofagasta y Coquimbo que representa a las localidades Centro-Norte (CN) y el tercero con las localidades de Valparaíso y Valdivia representando la zona Centro-Sur (CS). Los agregados CS y CN aparecen separados por

una distancia genética promedio de 0.01205, y ambos separados del agregado EN por una distancia promedio de 0.03633.

La disponibilidad de datos genéticos para el locus ODH de la localidad peruana de Mollendo, nos permite poner a prueba las siguientes dos

Tabla 5. Partición de los componentes de la Heterogeneidad de las frecuencias génicas: dentro y entre localidades estudiadas para el "loco". G es el Estadístico G. P. es la probabilidad de G. %G es el porcentaje de Heterogeneidad explicado por el respectivo componente.

Componente	ODH				LAP				ESTD-1			
	G	g.l.	P	%G	G	g.l.	P	%G	G	g.l.	P	%G
Dentro												
Localidades												
Perú	+	+	+		-	-	-		-	-	-	
Iquique	2.20	2	0.33		1.42	2	0.50		0.02	1	0.86	
Antofagasta	0.21	2	0.90		0.72	1	0.40		5.15	1	0.02	
Coquimbo	1.36	2	0.51		2.27	2	0.32		0.82	2	0.67	
Valparaíso	1.25	4	0.87		1.32	2	0.52		14.83	2	0.00	
Valdivia	+	+	+		+	+	+		+	+	+	
Total dentro												
Localidades	5.02	10	0.89	4.85	5.73	7	0.57	9.6	20.82	6	0.00	49.7
Total entre												
Localidades												
	98.53	15	0.00	95.2	54.06	8	0.00	90.4	21.07	8	0.01	50.3
Gran Total												
entre sitios												
	103.55	25	0.00	100	59.79	15	0.00	100.0	41.89	15	0.00	100

(+ = Localidad con un solo sitio estudiado; - = Loci no estudiado).

proposiciones. Primero, el locus ODH es un buen marcador genético de las relaciones de parentesco establecidas entre las localidades chilenas estudiadas, obtenidas sobre una base multi-loci (representado por la Fig. 1a). Segundo, en el fenograma obtenido por la ODH, la localidad de Mollendo debería aparecer más emparentada con el agregado EN que con los agregados más sureños (CS y CN); en particular esta comparación es importante, por cuanto los datos genéticos de Mollendo se trabajaron independientemente en Lima, Perú (Ver Materiales y Métodos).

En la Fig. 1b se representa el fenograma del locus ODH, pudiendo observarse que su estructura es equivalente a la de la Fig. 1a, discriminándose los mismos 3 agregados (EN, N y CS), como también, que la localidad de Mollendo aparece incorporada al agregado que

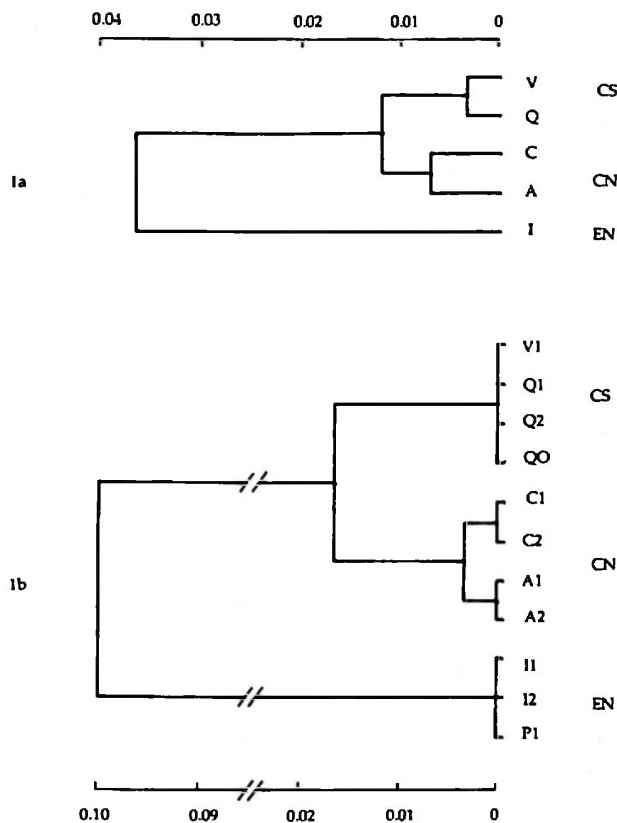


Figura 1. Fenogramas de distancias genéticas. 1a. Representa las relaciones de parentesco entre 5 localidades sobre la base de la información de 3 loci. (V= Valdivia; Q= Valparaíso; C= Coquimbo; A= Antofagasta e I= Iquique). 1b. Relaciones establecidas por el locus ODH, entre todos los sitios estudiados (incluido Mollendo, Perú). Los códigos utilizados que representan a los sitios son los de la Tabla 1. (CS= Agregado Centro-Sur, CN= Centro-Norte y EN= Extremo Norte). Ver texto para mayores explicaciones.

representa al Extremo Norte (EN). Lo anterior nos permite concluir que en efecto el locus ODH es un buen marcador de las relaciones de parentesco establecidas sobre una base multi-locus.

DISCUSION

Los datos genéticos presentados en este trabajo muestran que *C. concholepas* presenta un grado altamente significativo de diferenciación genética entre localidades geográficas, lo que permite rechazar la Hipótesis Nula Panmítica (HO), puesto que de acuerdo a esta hipótesis no se esperan diferencias genéticas entre las localidades.

El acercamiento metodológico utilizado ha sido crítico para contrastar apropiadamente esta hipótesis. Nosotros explícitamente hemos incorporado la escala geográfica de centenares de metros a decenas de kilómetros (escala local); simultáneamente con la escala de centenares de kilómetros a miles de kilómetros (mesoescala geográfica). Esto nos permite comparar dos estructuras jerárquicas: la geográfica y la genética poblacional, pudiéndose estimar los porcentajes de la heterogeneidad genética asociados a la escala local (componente dentro de localidades) y a la mesoescala geográfica (componente entre localidades) de los loci polimórficos estudiados. Este procedimiento posibilita la discriminación entre caracteres genéticos (loci-enzimáticos) informativos y no informativos. Un carácter informativo es aquel que permanece estable dentro de las poblaciones (Spanakis *et al.*, 1989); esto es, de acuerdo a nuestro enfoque, que mantiene una baja variación temporal y geográfica al menos a escala local. Los loci ODH y LAP cumplen objetivamente con este requisito. Así, para las localidades de Coquimbo, Antofagasta e Iquique se demuestra que el porcentaje de heterogeneidad genética asociada a la escala local geográfica es bajo y estadísticamente no significativo. Para la localidad de Valparaíso (Quintay y El Quisco) se muestra que estos caracteres permanecen estables en la escala temporal, puesto que Q1 se obtuvo en 1990, Q2 se obtuvo en 1991 y Q3 en 1992, dentro de la escala geográfica local. En cambio, el locus ESTD-1 es menos informativo que los anteriores, aunque parte significativa de la heterogeneidad es explicada por el com-

ponente meso-geográfico. Para un carácter no informativo, el ruido producido a escala local, ya sea por presiones selectivas temporal o geográficamente variables, o por deriva genética es más fuerte que la virtual acumulación gradual de la diferenciación debido a subdivisión poblacional (Spanakis *et al.*, 1989).

El argumento que nos permite rechazar la hipótesis nula panmíctica es que si un carácter informativo diferencia dos localidades, entonces esto puede ser tomado como evidencia que estas localidades no pertenecen a la misma unidad panmíctica.

Los fenogramas que muestran las relaciones de parentesco entre las localidades utilizando la distancia de Nei (Fig. 1) son coincidentes con el hecho que claramente las localidades del extremo norte de Chile y del Perú forman un agregado poblacional que se diferencia del resto de localidades, lo que sugiere que *C. conchalepas* estaría conformado por poblaciones geográficamente estructuradas, al menos en su área de distribución Centro-Norte: en algún punto geográfico entre Antofagasta e Iquique debería producirse la separación entre la probable población del extremo norte y aquella del Centro-Norte. La única evidencia encontrada en la literatura que sugiere la ocurrencia de una disrupción taxonómica en el "loco" corresponde a Stuardo (1979), quien sobre la base del tamaño corporal sugiere la existencia de una posible subespecie, la que se distribuiría desde Caldera al Callao, Perú. Sin embargo, la evidencia que se muestra en este trabajo no nos permite asegurar que el agregado poblacional del extremo norte corresponda a una subespecie, sino más bien sugiere la existencia de una población genéticamente distinta al resto. Por otra parte, un carácter como el tamaño corporal podría ser un carácter no informativo para resolver problemas de diferenciación poblacional (Spanakis *et al.*, 1989).

De acuerdo a los fenogramas (Fig. 1), otro probable quiebre poblacional debería producirse entre Puchuncaví y Valparaíso, área geográfica entre las que se segregan los agregados Centro-Norte (CN) y Centro-Sur (CS).

El locus ODH aparece como un excelente marcador genético de los 3 agregados poblacionales (EN, CN y CS) propuestos. La probabilidad de que los sitios del extremo norte de Chile y de Perú se hayan agrupado por mero azar es

de 0.006. La probabilidad de que las localidades Centro-Norte (Coquimbo-Antofagasta) se hayan agregado al azar es de 0.003, y el mismo valor ocurre para las localidades Centro Sur (Valparaíso). Por lo tanto, la probabilidad de que por azar se hayan agrupado los 11 sitios en los tres agregados discutidos es virtualmente cero ($0.006 \times 0.003 \times 0.003$).

Utilizando la información genética del locus ODH, que incluye la localidad peruana, se pudo estimar que el 88.8% de la heterogeneidad genética está asociada al agregamiento en los tres grupos poblacionales: EN, CN y CS (Tabla 6), lo que significa que el 93% del componente interlocalidad (Tabla 5) es explicado por estos 3 agregados poblacionales.

El hecho que la localidad de Valdivia (Mehuín) aparezca asociada cercanamente a la localidad de Valparaíso debe considerarse con cuidado, por 3 motivos. El primero y más crítico, está relacionado al hecho que no se dispuso de datos de otros sitios dentro de la localidad de Valdivia, por lo que no es posible estimar de modo confiable la heterogeneidad genética del componente entre-localidades para la comparación Valdivia y Valparaíso. El segundo obedece al hecho de que la muestra de Mehuín contiene un alelo (el alelo c del locus ODH) que nunca apareció en los sitios del Centro y Norte de la distribución, por lo que el alelo c podría ser un virtual alelo marcador de la región Sur. Y el tercero está relacionado con el hecho de que existen diferencias significativas en las frecuencias génicas del locus LAP, entre las localidades de Mehuín y Valparaíso ($G=3.90$, $g.1.=1$, $P=0.045$).

La heterogeneidad genética observada entre las localidades Centro-Norte de la distribución de la especie, junto a las razones anteriormente discutidas para la asociación Mehuín-Valparaíso, sugieren fuertemente la posibilidad de que el área Centro-Extremo Sur también presente patrones de diferenciación genética similares a los encontrados por nosotros. Sin embargo, para ello se necesita realizar muestreos adicionales, utilizando el protocolo que hemos aplicado en este trabajo, incluyendo sitios del sur y extremo sur y entre las localidades intermedias a las estudiadas en este trabajo. Lo anterior permitirá tener un cuadro más detallado de los patrones aquí descritos, como también permitirá poner a prueba definitivamente las Hi-

Tabla 6. Análisis de los componentes de la Heterogeneidad genética de la ODH, asociados al reagrupamiento de los sitios en 3 agregados poblacionales: Centro-Sur (CS), Centro-Norte (CN) y Extremo Norte (EN). G es el Estadístico G. P es la probabilidad de G. %G es el porcentaje de Heterogeneidad explicado por el respectivo componente.

Componente	G	g.l.	P	%G
Extremo Norte				
Dentro de agregado	3.79	4	0.44	3.9
Centro-Norte				
Dentro de agregado	5.81	6	0.45	5.9
Centro-Sur				
Dentro de agregado	1.39	6	0.96	0.0
Entre agregados poblacionales	87.16	6	0.00	88.8
Gran total entre sitios	98.15	22	0.00	100.0

pótesis de Aislamiento por distancia (H1) y de Poblaciones geográficamente estructuradas (H2) en *C. concholepas*.

Mientras que *C. concholepas* en la fase juvenil-adulta presenta una escasa movilidad, en la fase larvaria tiene un potencial de dispersión que puede alcanzar los 3 meses de residencia en el plancton (DiSalvo, 1988). Debido a lo anterior es posible esperar que el flujo génico entre localidades lejanas sea extensivo (Gooch *et al.*, 1972; Crisp, 1978; Hedgecock, 1986), de lo que se infiere, que la diferenciación genética observada está ocurriendo a pesar del gran potencial de dispersión de la larva. Para comprender las causas que pueden mantener la diferenciación genética en *C. concholepas* sería importante hacer una distinción entre aquellas que son primarias, esto es, que determinan el origen de la estructura poblacional; y aquellas que son secundarias, esto es, que han permitido secundariamente desarrollar adaptaciones para la mantención de la estructura geográfica.

Las barreras o las condiciones hidrobiológicas pueden ser una causa primaria y secundaria de la estructura geográfica. Como ejemplo de su acción primaria, en Nueva Zelandia se ha demostrado que existen barreras hidrobiológicas de masas de agua que limitan el flujo génico y, por lo tanto, son una causa primaria de intensos patrones de diferenciación genética (Smith *et al.*, 1978, 1989; Smith, 1988; Stevena, 1991). Y en Australia, la subdivisión poblacional en la anémona *Anemona tenebrosa* es consistente con los movimientos de masas de agua de la corriente australiana del este (Ayre *et al.*, 1991). En

cambio, existen condiciones hidrobiológicas que han actuado como una causa secundaria para la mantención de la estructuración geográfica. Así, en peces se ha propuesto que las larvas han desarrollado adaptaciones para quedar atrapadas en áreas de retención de diferentes escalas geográficas y temporales (Iles & Synclair, 1982). Estas posibilidades deben ser exploradas para *C. concholepas*, desarrollando estrategias técnicas e imaginativas para trabajar con larvas o reclutas como las implementadas por Patarnello *et al.*, (1991).

En este trabajo se ha encontrado que para Quintay y Mehuín, la heterocigosidad observada promedio por locus para individuos es de 0.065. Este valor es bajo comparado con otros gastrópodos, como *Haliotis discus* ($H_o = 0.123$), *Patella aspersa* ($H_o = 0.220$ o *Patella coerulea* ($H_o = 0.156$) (Fujio *et al.*, 1983, Lavie *et al.*, 1987). No obstante los valores encontrados para el loco son de la misma magnitud que *Nucella lapillus*, 0.074 (Day & Baine, 1988). Sin embargo, no existe una respuesta o modelo único que puedan explicar estos valores (Nevo *et al.*, 1984). Sólo a través de diseños experimentales y muestreos de seguimiento periódico de la variabilidad genética, se podrán discriminar los factores que la afectan. De acuerdo a Guíñez *et al.* (1986) y Smith *et al.* (1991), la intensa actividad pesquera podría alterar la estructura y variabilidad genéticas a través de la remoción selectiva de individuos de genotipos heterocigotos que presenten una mayor tasa de crecimiento (ver además, Guíñez, 1989, 1986).

Finalmente, es necesario destacar la impli-

cancia aplicada que tienen nuestros resultados. El hecho de que ellos sugieren la existencia de al menos 3 agregados poblacionales en el área de distribución Centro-Norte del recurso "loco", permite proponer que estos agregados deben ser considerados como unidades independientes o stocks biológicos, tanto del manejo del recurso como de los estudios ecológicos y biológicos poblacionales y comunitarios que se realicen relacionados con la especie.

AGRADECIMIENTOS

Los autores dedican este trabajo al prestigiado y desgraciadamente tempranamente fallecido biólogo chileno Sr. Jorge Tomacic, quien junto a su hijo Juan Pablo muestrearon el material de Antofagasta. Jorge siempre demostró un enorme entusiasmo y amor por el desarrollo de las Ciencias del Mar en Chile. Se agradece el apoyo y facilidades prestadas por el Dr. Jorge Garrido (CONYCI), Dr. Manuel Vegas-Vélez (CONCYTEC-COMAR COSALC VII, Perú) y por las autoridades y funcionarios de la Subsecretaría de Pesca, y del SERNAP. A los colegas que colaboraron en el muestreo: A. Vizcarra V. (Perú), A. Ramos (Perú), C. Moreno, F. Aybar, J. Carvajal, J. Oliva, G. Jerez y C. Andrade. También agradecemos a C. Sevilla, a A. Vizcarra, a A. Ramos y colegas asistentes, al curso "Genética de Poblaciones Marinas 2" (CONCYTEC-COMAR COSALC VII, Lima 1992), que hicieron la electroforesis del material peruano. A M. Gallardo y F. Alay por las fructíferas discusiones y colaboración mantenidas en el ámbito de las reuniones técnicas de coordinación de los Proyectos Fondecyt Sectorial "Loco".

Financiamiento OEA y Proyecto FONDECYT SECTORIAL "LOCO" 3503-89.

LITERATURA CITADA

- ALLENDRORF, F., N. RYMAN & F. UTTER. 1987. Genetics and fishery management: Past, present and future. En: Population and fishery Management. 1:1-19. N. Ryman N. and F. Utter (ed.). University of Washington Press, Seattle and London.
- AHMAD, M., D.O.F. SKIBINSKY & J.A. BEARDMORE, 1977. An estimate of the amount of genetic variation in the common mussel, *Mytilus edulis*. Biochemical Genetics, 15: 833-846.
- ANON. 1976. Ad hoc meeting of scientists to discuss skipjack fisheries development and research requirements. Report South Pacific Commission, Noumea, 28 pp.
- AYRE, D.J., J. READ & J. WISHART, 1991. Genetic subdivision within the eastern Australian population of the sea anemone *Actinia tenebrosa*. Marine Biology, 109: 379-390.
- BEAUMONT, A. R., T.R. DAY & G. GADE. 1980. Genetic variation at the Octopine dehydrogenase locus in the adductor muscle of *Ceratoderma edule* (L.) and six other bivalve species. Marine Biology Letters, 1: 137-148.
- CRISCI, J.V. & M.F. LÓPEZ. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Washington D.C., 132 pp.
- CRISP, J.D. (1978). Genetic consequences of different reproductive strategies in marine invertebrates. En: Marine organisms: genetics, ecology and evolution. pp. 257-273. B. Battaglia and J.A. Beardmore (ed.). Plenum Press, New York.
- DAY, A.J. & B.L. BAYNE. 1988. Allozyme variation of the dogwhelk *Nucella lapillus* (Prosobranchia: Muricacea) from the South West peninsula of England. Marine Biology, 99: 93-100.
- DI SALVO, D.H. 1988. Observations on the larval and post-metamorphic life of *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) in laboratory culture. The Veliger, 30: 358-368.
- DOBZHANSKY. 1950. Mendelian populations and their evolution. American Naturalist, 84: 401-418.
- FUJIO, Y., R. YAMANAKA & P.J. SMITH. 1983. Genetic variation in marine molluscs. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 49: 1809-1817.
- GALLARDO, C. 1979. El ciclo vital del muricidae *Concholepas concholepas* y consideraciones sobre sus primeras fases de vida en el bentos. Biología Pesquera, Chile, 12: 79-89.
- GOOCH, J.L., B.S. SMITH & D. KNUPP. 1972. Regional survey of gene frequencies in the mudsnail, *Nassarius obsoletus*. Biological Bulletin of marine biology Lab., Woods Hole 142: 36-48.
- GUÍÑEZ, R. 1986. Heterocigosidad genética, crecimiento y sobrevivencia relativa en cohortes de *Tiostrea chilensis*. Informe final Proyecto DIUC 2F/84. Pontificia Universidad Católica de Chile, 116 pp.
- GUÍÑEZ, R. 1989. Estudios genético-ecológicos en la ostra chilena. *Tiostrea chilensis*. En: Genética y recursos renovables. pp: 33-44. F. Alay (ed.) Universidad de Concepción, Concepción.
- GUÍÑEZ, R. & R. GALLEGUILLOS. 1985. Clinal variation in the morphological distance between genotypes at the carbonic anhydrase locus in the Chilean oyster. *Tiostrea chilensis* (Philippi, 1845) Chanley & Dinamani 1980. Brazilian Journal of Genetics, 8: 609-616.
- GUÍÑEZ, R., A. MONSALVE & R. GALLEGUILLOS. 1986. Correlaciones genético-morfológicas en la ostra chilena, *Tiostrea chilensis* (Philippi, 1845) Chanley & Dinamani, 1980, del banco de Pullinque (Ancud, Chiloé). Biología Pesquera, Chile, 15: 17-25.
- HARRIS, H. & D.A. HOPKINSON. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. American Elsevier, New York.
- HARTL, D.L. & A.G. CLARK. 1989. Principles of population genetics. 2da. Ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 682 pp.
- HEDGECOCK, D. 1986. Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? Bulletin of Marine Sciences, 39: 550-564.

- ILES, T.D. & M. SINCLAIR. 1982. Atlantic herring: stock discreteness and abundance. *Science*, 215: 627-633.
- LAVIE, B., R. NOY & E. NEVO. 1987. Genetic variation in the marine gastropods *Patella coerulea* and *Patella aspersa*: patterns and problems. *Marine Biology*, 96: 367-370.
- NACIONES UNIDAS. 1980. Genetic Resources. United Nations Environment Program Report 5.
- NEI M. 1978. The theory of genetic distance and evolution of human races. *Japanese Journal of Human Genetics*, 23: 341-369.
- NEVO, E., A. BEILES & R. BEN SHILOMO. 1984. The evolutionary significance of genetic diversity; ecological, demographic and life history correlates. *Lecture Notes in Biomathematics*, 53: 13-212.
- OLIVA, D. & J.C. CASTILLA. 1990. Repoblación natural: El caso del loco *Concholepas concholepas* (Gastropoda: Muricidae), en Chile central. En: *Cultivo de Moluscos en América Latina. Memorias Segunda Reunión Grupo de Trabajo Técnico*. pp. 273-295. A. Hernández (ed.) Red Regional de Entidades y Centros de Acuicultura de América Latina, Bogotá.
- PATARNELLO, T., R. GUÍÑEZ & B. BATTAGLIA. 1991. Effects of pollution on heterozygosity in the barnacle *Balanus amphitrite* (Cirripedia: Thoracica). *Marine Ecology Progress Series*, 70: 237-243.
- RICHARDSON, B.G., P.R. BAVERSTOCK & M. ADAMS. 1986. Allozyme electrophoresis. Academic Press, London. 410 pp.
- SCHAAL, B.A., & W. ANDERSON. 1974. An outline of techniques for starch-gel electrophoresis of enzyme from the American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Marine Sciences Center. Technical Report Series N° 74: 3-19.
- SMITH, P.J. 1988. Biochemical genetic variation in the green-lipped mussel *Perna canaliculus* around New Zealand and possible implications for mussel farming. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 22: 85-90.
- SMITH, P.J., R.I.C.C. FRANCIS & L.J. PAUL. 1978. Genetic variation and population structure in the New Zealand snapper, *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 12: 343-350.
- SMITH, P.J., C.J. MACARTHUR & K.P. MICHAEL. 1989. Regional variation in electrophoresis frequencies in the tuatua, *Paphies subtriangulata*, around New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 23: 27-33.
- SMITH, P.J., R.I.C.C. FRANCIS & M. McVEAGH. 1991. Loss of genetic diversity due to fishing pressure. *Fisheries Research*, 10: 309-316.
- SMITHIES, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults. *Biochemical Journal*, 61: 629-641.
- SNEATH, P.H.A. & R.R. SOKAL. 1973. *Numerical Taxonomy. The principle and practice of Numerical Classification*, Freeman, San Francisco, 573 pp.
- SOKAL, R. & F.J. ROHLF. 1969. *Biometry*. W.H. Freeman and Company, New York. 776 pp.
- SPANAKIS, R.D., N. TSIMENIDES & E. ZOUROS. 1989. Genetic differences between populations of sardine, *Sardina pilchardus*, and anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in the Aegean and Ionian seas. *Journal of Fish Biology*, 35: 417-437.
- STEVENS, P.M. 1991. A genetic analysis of the pea crabs (Decapoda: Pinnotheridae) of New Zealand. II. Patterns and intensity of spatial population structure in *Pinnotheres atrincola*. *Marine Biology*, 108: 403-410.
- STUARDO, J. 1979. Sobre la clasificación, distribución y variación de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789): un estudio de taxonomía beta. *Biología Pesquera, Chile*, 12: 5-38.
- YABLOKOV, A.V. 1986. *Population Biology. Progress and problems of studies on Natural Populations*, Mir Publishers, Moscow, 303 pp.

