

DIVERSIDAD GENÉTICA DEL LANGOSTINO BLANCO *LITOPENAEUS SCHMITTI* EN EL CARIBE COLOMBIANO

Allan G. Valle¹, Adriana Fresneda-Rodríguez, Luis Chasqui² y Susana Caballero¹

¹ Universidad de los Andes, Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Ecología Molecular de Vertebrados Acuáticos (Lemva), Carrera 1 No. 18A-12, Bogotá, Colombia. ag.valle115@uniandes.edu.co, sj.caballero26@uniandes.edu.co

² Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar) Calle 25 No. 2-55, Playa Salguero, El Rodadero, Santa Marta, Colombia. luis.chasqui@invemar.org.co

RESUMEN

El camarón blanco *Litopenaeus schmitti* ha sido explotado en el Caribe colombiano desde 1968, convirtiéndose en una especie de gran interés comercial y llevando al desarrollo de una alta actividad pesquera, que posteriormente llevó a una sobreexplotación que condujo a un decrecimiento en la captura. Debido a esta situación de la especie, con el fin de estudiar la diversidad genética y el grado de diferenciación genética dentro de cada población y entre las distintas poblaciones del camarón blanco *Litopenaeus schmitti* en el Caribe colombiano con ayuda de marcadores moleculares microsatélites, se capturaron 162 individuos de cuatro localidades costeras: Laguna de Navío Quebrado en La Guajira, Ciénaga Grande de Santa Marta en Magdalena, bahía de Barbacoas en Bolívar y bahía de Cispatá en Sucre; y una población de mar abierto en el golfo de Morrosquillo, frente a las costas de Córdoba y Sucre. Se encontró que la población de Navío Quebrado presentó la mayor heterocigosidad observada, mientras que la de Ciénaga Grande presentó el menor índice de endogamia. De acuerdo con el análisis de estructura poblacional existen tres unidades; una conformada por las poblaciones de Ciénaga Grande, bahía de Barbacoas y Cispatá, otra por el golfo de Morrosquillo y otra por la laguna de Navío Quebrado, lo cual puede estar influido por los patrones de corrientes oceanográficas.

PALABRAS CLAVES: Camarones peneidos, Diferenciación genética, Marcadores microsatélites, Sobreexplotación pesquera, Genética poblacional.

ABSTRACT

Genetic diversity of the southern white shrimp *Litopenaeus schmitti* in the Colombian Caribbean. Southern white shrimp *Litopenaeus schmitti* has been a commercial exploited species in Colombian Caribbean since 1968, becoming a high trade interest species and carrying a development of high fisheries activity, which then caused an overexploitation and a subsequent decrease in catches. Due to the current situation of this species, with the aim of assess the genetic diversity and the level of differentiation within each population and between different populations of the southern white shrimp with help of microsatellite molecular markers, 162 individuals were fished from four shore locations; Laguna de Navío Quebrado in La Guajira, Ciénaga Grande de Santa Marta in Magdalena, Bahía de Barbacoas in Bolívar and Bahía de Cispatá in Sucre; and one open sea population in Golfo de Morrosquillo, Córdoba

and Sucre shores. It was found that Navío Quebrado's population showed the highest level of observed heterocigosity and Ciénaga Grande's population showed the lower level of inbreeding. According to the analysis of population structure, there are three population units; one consisting of Ciénaga Grande, Bahía de Barbacoas, and Cispatá populations, another consisting of Golfo de Morrosquillo population, and a third one consisting of Laguna de Navío Quebrado; these findings could be results of the oceanographic current patterns.

KEY WORDS: Penaeid shrimps, Genetic differentiation, Microsatellites markers, Fisheries overexploitation, Population genetics.

INTRODUCCIÓN

La explotación camaronesa en aguas colombianas es una actividad económica desarrollada desde finales de la década de los años 60 del siglo pasado y ha sido la segunda pesquería en importancia después de la pesca del atún en Colombia (Rueda *et al.*, 2006). El auge de la explotación del camarón debido al gran valor comercial del recurso ha llevado al desarrollo de una fuerte actividad pesquera con incremento en la intensidad de captura tanto en zonas de humedales mangláricos, los cuales son áreas importantes para el desarrollo de varios estadios de vida, como a nivel industrial por parte de flotillas de barcos en aguas de mar abierto, generando una pesca de tipo secuencial que ejerce presión en varios estadios del ciclo de vida de los camarones. Esta situación ha llevado a la sobreexplotación de las poblaciones que conforman el recurso de camarón de aguas someras, que actualmente se encuentran prácticamente colapsadas, pero con esperanzas de restablecerse debido a un decrecimiento significativo en la presión pesquera comercial por una disminución en la captura por unidad de esfuerzo, ya que la actividad dejó de ser económicamente rentable (Dayton *et al.*, 1995; Rueda *et al.*, 2006). El camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*), es una de las especies más apetecidas a nivel nacional por su valor e importancia comercial, especialmente como producto de exportación. Estos camarones tienen una tasa de crecimiento relativamente alta, más de un centímetro por mes, y una longevidad aproximada de 18 meses (Piñeros y Sieguert, 1981).

Litopenaeus schmitti se distribuye a lo largo de las Antillas Mayores desde Cuba hasta las islas Vírgenes y las Antillas Menores. En la plataforma continental se extiende desde la costa del mar Caribe desde Belice y la costa Atlántica de Sudamérica hasta Brasil.

Sobre el grupo de los camarones peneidos existe un gran volumen de información publicada. Entre estos se encuentran trabajos sobre su diversidad genética, estructura poblacional y filogeografía realizados a partir de análisis de *loci* microsatélites (Cruz *et al.*, 2002, 2004; Ball y Chapman, 2003; Dong *et al.*, 2006; Pérez-Enríquez *et al.*, 2009), estudios de diversidad genética igualmente a partir de

loci microsatélites (Cruz *et al.*, 2004; Dong *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007; Mathews, 2007; Gao *et al.*, 2008; You *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Pérez-Enríquez *et al.*, 2009), y de otros marcadores como los AFLP (Wang *et al.*, 2005) y análisis de la subunidad I del citocromo oxidasa (COI) y el gen 16S (Luttikhuisen *et al.*, 2008; Roldán *et al.*, 2009). La mayoría de estudios genéticos con *L. schmitti* se han enfocado en poblaciones cultivadas, pero también existen algunos trabajos con poblaciones naturales y a nivel de relaciones filogenéticas con otras especies del mismo género. Espinosa *et al.* (2003), trabajando con aloenzimas en poblaciones naturales de *L. schmitti*, encontraron alguna variabilidad entre las localidades al sur de Cuba; posteriormente, Borrell *et al.* (2004) empleando *loci* microsatélites confirmaron esas diferencias. En Brasil Maggioni *et al.* (2003), trabajando con seis microsatélites, encontraron diferencias entre poblaciones al norte y al sur de Cabo Frío.

Teniendo en cuenta el potencial uso de los marcadores *loci* microsatélites para estudios de relaciones de parentesco a nivel de genética poblacional, en este estudio se evaluó: (1) el grado de relación genética existente entre individuos de las distintas ciénagas y humedales del Caribe colombiano donde se realiza la pesca artesanal del recurso camarónero, evaluando posible estructura poblacional y diferenciación genética entre estas áreas y, (2) la posible relación existente entre los individuos juveniles encontrados en las ciénagas y humedales con los provenientes del stock de adultos capturados en mar abierto, con el fin de establecer cuáles de estas poblaciones están aportando más individuos a dicho stock de mar abierto por medio de análisis y pruebas de asignamiento poblacional.

ÁREA DE ESTUDIO

El proyecto se desarrolló en los principales humedales costeros de la costa Caribe, la cual cuenta con 1600 km aproximados de litoral, comprendidos entre Cabo Tiburón (8°42'N, 77°19'O) en el golfo de Urabá al sur hasta Punta Castilletes en la península de La Guajira al norte (11°50'N, 71°18'O). Esta gran región se encuentra dividida en dos áreas naturales, suroeste y noreste, separadas por la desembocadura del río Magdalena en Bocas de Ceniza. En la plataforma Caribe se encuentran fondos planos lodosos, fangosos y areno-fangosos con profundidades estimadas entre 20 y 70 m, aprovechables para la pesca por arrastre del fondo, con excepción de los fondos coralinos y rocosos que rodean los archipiélagos del Rosario y de San Bernardo. El proyecto se enfocó en los municipios de Cartagena de Indias (Bolívar), San Antero (Córdoba), Dibulla y Riohacha (La Guajira), y Ciénaga (Magdalena), donde están ubicados algunos de los humedales de mayor importancia ecológica y económica para las poblaciones de la costa Caribe.

MATERIALES Y MÉTODOS

Un total de 162 individuos se utilizaron en el presente trabajo. 35 de ellos provenían de la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM), Magdalena (10°59'30"N; 74°17'35"W), 32 de la laguna de Navío Quebrado, Riohacha, La Guajira (11°25'51"N; 73°05'22"W), 32 más procedentes de la bahía de Barbacoas, Cartagena, Bolívar (10°3'09"N; 75°33'0"W) y 34 de la bahía de Cispatá, San Antero, Córdoba (09°22'59"N; 75°47'37"W). También se capturaron 29 individuos adultos de la pesca industrial camaronesa en el golfo de Morrosquillo, entre Punta Obrero y Boquerón frente al municipio de Tolú (09°31'30"N; 75°34'54"W) para lo cual se contó con la colaboración de la flota industrial con acción en el área para permitir el acceso al producto recién pescado (Figura 1).

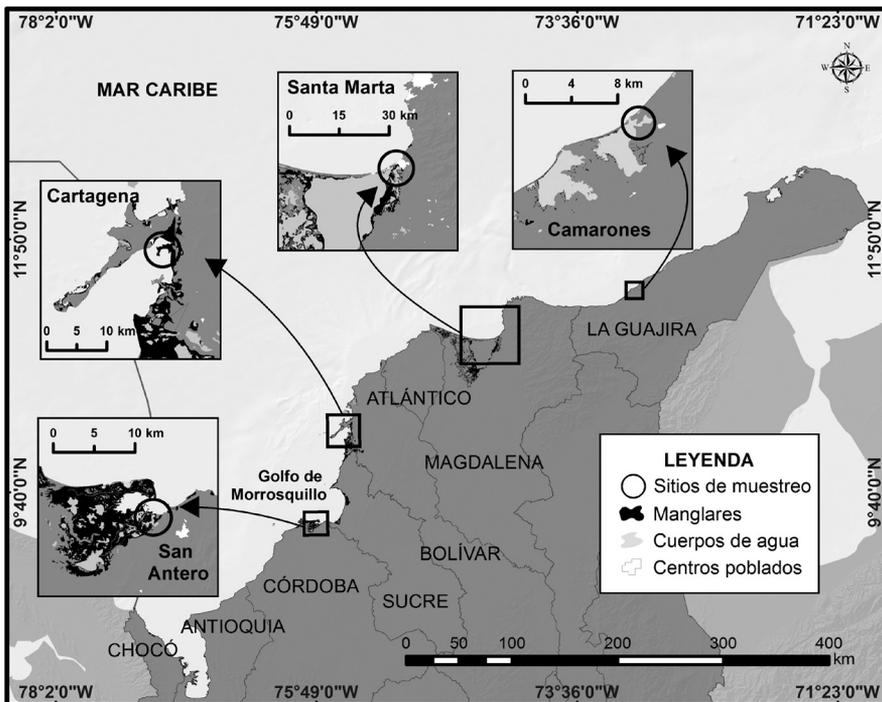


Figura 1. Ubicación de las localidades de origen de las muestras de *Litopenaeus schmitti* en la costa Caribe colombiana. Laguna de Navío Quebrado, departamento de La Guajira; Ciénaga Grande de Santa Marta, departamento de Magdalena; Bahía de Barbacoas, departamento de Bolívar; Golfo de Morrosquillo, departamentos de Sucre y Córdoba; Bahía de Cispatá, departamento de Córdoba. Desembocadura del río Magdalena, departamento del Atlántico.

La extracción de ADN se realizó a partir de músculo del tercer segmento abdominal y del pleópodo de camarones adultos, utilizando el kit de extracción DNeasy® Blood and Tissue de Qiagen (Qiagen Laboratories, Inc., Hilden, Alemania). Para la verificación de la calidad y cantidad de ADN se realizó la electroforesis de 3µ de cada muestra en geles de agarosa a una concentración de 0.8%, en amortiguador TBE 1X (Sambrook *et al.*, 1989) a un voltaje constante de 90V por 45 minutos, teñido con GelRed y con un marcador de peso molecular HyperLadder IV (Bioline).

Se logró la amplificación de ocho *loci* microsatélites para todas las muestras (Tabla 1), tres desarrollados para *Litopenaeus schmitti* (Lsch005, Lsch 099, Lsch2; perfil térmico de amplificación para los tres *loci*: Desnaturalización: 94°C/1 min x 1; Desnaturalización: 94°C/1 minuto, Hibridación: 50°C/1 min, Extensión: 72°C/1 min x 40; Extensión: 72°C/10 min x 1 y Finalización 4°C/20 min x 1) y cinco desarrollados para otras especies de peneidos (Pse028, Pse 036 [Perfil térmico de amplificación: Desnaturalización: 95°C/2 min x 1, Touchdown: 95°C/30 seg, 50°C/1 min, 72°C/45 seg x 5, Desnaturalización: 94°C/30 seg x 25, Hibridación: 50°C/1 min x 25, Extensión: 72°C/45 seg x 25, Extensión: 72°C/30 min x 1 y Finalización: 4°C/20 min x 1], Lvan1815 [Desnaturalización: 94°C/4 min x 1; Desnaturalización: 94°C/1 min, Hibridación: 56°C/1 min, Extensión: 72°C/min x 35; Extensión: 72°C/10 min x 1 y Finalización: 4°C/20 min x 1], CNM406 y CNM430 [Desnaturalización: 94°C/3 min x1; Touchdown: 92°C/30 seg, 55°C/30 seg y 72°C/1 min x 12; Desnaturalización: 94°C/3 min x 1; Desnaturalización: 92°C/30 seg, 43°C/30 seg y Extensión: 72°C/1 min x 18; Extensión 72°C/1 min x 1 y Finalización: 4°C/20 min x 1]) descritos por Ball *et al.* (1998), Espinosa *et al.* (2001), Maggioni *et al.* (2003) y Freitas *et al.* (2007) (Tabla 1). Una vez lograda la amplificación de estos *loci*, los productos obtenidos se purificaron con un kit de limpieza estándar.

Tabla 1. Secuencia de cebadores de los ocho *loci* microsatélites utilizados en la amplificación de ADN en la especie *Litopenaeus schmitti* en el Caribe colombiano.

Especie	Locus	Secuencia Cebador (5'-3')	No. Acceso GenBank	Referencia
<i>Litopenaeus schmitti</i>	Lsch2	Derecho: TAAGGCGATTTGGTTCACGT Izquierdo: TTAGTCATTATGAACGAATG	LSC277642	Espinosa <i>et al.</i> (2001)
<i>Litopenaeus schmitti</i>	Lsch5	Derecho: TGTTATTCCAGATTCCTTGCTC Izquierdo: GCAGTGAAACAGAAGCGAAG	AY135202	Maggioni <i>et al.</i> (2003)
<i>Litopenaeus schmitti</i>	Lsch099	Derecho: AATACGTTGCAAAGGGGAGA Izquierdo: ACCGCGGCTGTAATCTGTAA	AY135203	Maggioni <i>et al.</i> (2003)
<i>Litopenaeus setiferus</i>	Pse028	Derecho: GATCCTTCTAGCTAAATGGG Izquierdo: GATCGAAGGTAACTTTATTATC	AF047359	Ball <i>et al.</i> (1998)

Continuación de Tabla 1.

Especie	Locus	Secuencia Cebador (5'-3')	No. Acceso GenBank	Referencia
<i>Litopenaeus setiferus</i>	Pse036	Derecho: GACTTTGTATTTTCATAAACGCTG Izquierdo: CGCTATATTTTCGCAGTAAGGCTAC	AF047361	Ball <i>et al.</i> (1998)
<i>Litopenaeus vannamei</i>	CNM406	Derecho: GATAAAGAAGCGAGAACG Izquierdo: CTATGGCTAGATCCGAGA	-	Pérez <i>et al.</i> (2005)
<i>Litopenaeus vannamei</i>	CNM430	Derecho: GGGAAGCCCAATAAGA Izquierdo: AAAGAAGAGGAAAGGGATAC	-	Pérez <i>et al.</i> (2005)
<i>Litopenaeus vannamei</i>	Pvan1815	Derecho: GATCATTGCCCCCTTTTT Izquierdo: ATCTACGGTTCGAGAGCAGA	AY062925	Cruz <i>et al.</i> (2002)

Se realizaron pruebas de neutralidad, desequilibrio de ligamiento y comprobación para alelos nulos, con el programa Micro-Checker v 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Posteriormente, para cuantificar niveles de diversidad genética en las diferentes zonas de cría, se calculó la heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) para cada locus, y se realizó la prueba de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg. Para evaluar la posible diferenciación genética significativa entre zonas de cría, se calcularon índices de fijación F_{is} y F_{st} para cada par de poblaciones. También se realizó una prueba de análisis de varianza molecular (Ampova) (Tabla 2) y con un valor $F_{st} = 0.01265$ se encontró que existe poca diferenciación entre las distintas localidades de colecta de los individuos, este análisis se hizo con el fin de comparar variaciones entre y dentro de cada una de las distintas poblaciones de las que se colectaron individuos, relacionando la evidencia de estructura poblacional en las localidades de colecta, considerando cada zona de cría como una población. Estas pruebas estadísticas fueron realizadas en los programas Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.*, 2000) y Genepop 3.4 (Raymond y Rousset, 1995).

Tabla 2. Análisis molecular de varianza (Ampova) para detectar variación entre poblaciones y dentro de las distintas poblaciones de *Litopenaeus schmitti* en el Caribe colombiano.

Fuente de variación	d.f.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	4	18.551	0.03248 Va	1.26
Dentro de las poblaciones	319	808.832	2.53552 Vb	98.74
Total	323	827.383	2.56800	
Índice de fijación	Fst: 0.01265			

De igual manera, con el fin de realizar un análisis de asignación o exclusión de poblaciones como orígenes de individuos y de estimar el número de clúster genéticos por medio del grado de entrecruzamiento entre clúster, se utilizó el programa Structure 2.0 (Pritchard *et al.*, 2000), en el cual para cada valor de K probado (1 a 5), se hicieron 20 corridas con período de *burn in* de 5000, seguidos de 50000 muestras de Cadenas de Markov por el método de Monte Carlo (MCMC). Dicha simulación se llevó a cabo bajo el criterio del modelo de mezcla con frecuencia correlacionada de alelos ya que, de acuerdo con Evanno *et al.* (2005), el programa Structure 2.0 no detecta la verdadera cantidad de clústeres en especies que no presenten patrones de dispersión homogéneos. Por esta razón, se utilizó el criterio propuesto por este mismo autor para reevaluar el valor de K y así finalmente hallar el número apropiado de clústeres. Se encontró la presencia de alelos nulos en los *loci* Lvan1815 y CNM430, debido a un exceso de homocigotos (Tabla 3); por esta razón, esos dos *loci* fueron descartados para posteriores análisis, debido a que pueden afectar las estimaciones de diferenciación de poblaciones reduciendo la diversidad genética dentro de las poblaciones (Chapuis y Estoup, 2007).

Tabla 3. Test de Hardy-Weinberg de desequilibrio de ligamiento para detectar alelos nulos en las cinco localidades de *Litopenaeus schmitti*, en el Caribe colombiano. Se resaltan en negrilla los *loci* Lvan1815 y CNM430, los cuales presentaron exceso de heterocigotos.

Loci	Valor p	Error estándar
Lsch5	0.9135	0.0135
Lsch2	0.4859	0.0177
Lsch099	0.9508	0.0145
Pse28	0.3255	0.0660
Pse36	0.5214	0.0452
Lvan1815	0.9989	0.0002
CNM430	0.9711	0.0032
CNM406	0.9116	0.0234

RESULTADOS

En general, la heterocigosidad observada (H_o) fue menor que la heterocigosidad esperada (H_e). La población en la que se presentó la mayor diferencia entre estos valores fue Cispatá, con un valor de heterocigosidad observada de 0.85193 frente a un valor de heterocigosidad esperada de 0.89176, mientras que Navío Quebrado fue la única población que presentó una mayor heterocigosidad observada (0.89968) frente a la esperada (0.88706). La población que presentó el

menor número de alelos fue CGSM (5) para el *locus* Lsch5 y las que presentaron el mayor número de alelos fueron golfo de Morrosquillo (18 para Pse28) y Cispatá (18 para CNM406) (Tabla 4). De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de desequilibrio de ligamiento, no se encontró que este se presentara de manera significativa para todos los pares de loci involucrados, por lo tanto se consideró que cada locus podía ser tratado como un estimado independiente.

Tabla 4. Diversidad genética para seis *loci* microsatélites en cinco localidades de *Litopenaeus schmitti* en el Caribe colombiano. N = Tamaño de la muestra, n = número total de alelos, Ho = Heterocigosidad observada, He = Heterocigosidad esperada.

Locus	Bahía de Barbacoas N = 32	Bahía de Cispatá N = 34	Laguna de Navío Quebrado N = 32	Ciénaga Grande de Santa Marta N = 35	Golfo de Morrosquillo N = 29
	n = 6	n = 11	n = 8	n = 5	n = 7
Lsch5	Ho = 0.80645	Ho = 0.80645	Ho = 0.90323	Ho = 0.88235	Ho = 0.89655
	He = 0.79799 n = 10	He = 0.84188 n = 11	He = 0.80063 n = 10	He = 0.69886 n = 10	He = 0.68724 n = 8
Lsch2	Ho = 0.74194	Ho = 0.78125	Ho = 0.87500	Ho = 0.77143	Ho = 0.75000
	He = 0.85828 n = 12	He = 0.80456 n = 11	He = 0.87748 n = 12	He = 0.87743 n = 12	He = 0.79870 n = 13
Lsch099	Ho = 0.93548	Ho = 0.76471	Ho = 0.93333	Ho = 0.91429	Ho = 0.92857
	He = 0.87414 n = 9	He = 0.87752 n = 25	He = 0.86780 n = 29	He = 0.87578 n = 23	He = 0.91688 n = 18
Pse28	Ho = 0.96875	Ho = 0.94118	Ho = 0.96774	Ho = 1.00000	Ho = 0.89655
	He = 0.96825 n = 15	He = 0.96400 n = 14	He = 0.96298 n = 14	He = 0.94534 n = 13	He = 0.93406 n = 6
Pse36	Ho = 0.93750	Ho = 0.90625	Ho = 0.96875	Ho = 0.74286	Ho = 0.65517
	He = 0.92014 n = 15	He = 0.91617 n = 18	He = 0.90377 n = 15	He = 0.86749 n = 16	He = 0.72595 n = 16
CNM406	Ho = 0.90625	Ho = 0.91176	Ho = 0.75000	Ho = 0.82857	Ho = 0.75862
	He = 0.93353	He = 0.94644	He = 0.90972	He = 0.88116	He = 0.88627
Heterocigosidad Observada y Esperada	Ho = 0.88273	Ho = 0.85193	Ho = 0.89968	Ho = 0.85658	Ho = 0.81424
	He = 0.89206	He = 0.89176	He = 0.88706	He = 0.85768	He = 0.82485

El valor más bajo de Fis se obtuvo para la población de CGSM (Fis = -0.044) y el más alto para la población de Cispatá (Fis = 0.0566) (Tabla 5), mientras el valor Fst más bajo se obtuvo para el par Bahía de Barbacoas-Cispatá (Fst = 0.00194); Este último fue igualmente el que presentó el valor p más alto (0.27354+-0.0051), y el más alto para el par Navío Quebrado-Golfo de Morrosquillo (Fst = 0.06112), con valor p < 0.005 (Tabla 6). De acuerdo con los resultados obtenidos

con el test de análisis desarrollado a través de Structure 2.0 (Pritchard *et al.*, 2000) para las muestras, la mayor probabilidad de estructura poblacional fue para K = 4, lo cual fue posteriormente confirmado al momento de realizar la corrección con el método de Evanno *et al.* (2005) (Figura 2).

Tabla 5. Índices Fis de diferenciación genética dentro de cada localidad de *Litopenaeus schmitti* en el Caribe colombiano.

Población	Fis
Bahía de Barbacoas	0.0462
Cispatá	0.0566
Navío Quebrado	0.0318
Ciénaga Grande	-0.0044
Golfo de Morrosquillo	0.0130

Tabla 6. Valores Fst y valores p de diferencia para las cinco poblaciones de *Litopenaeus schmitti* en el Caribe colombiano: (1) Bahía de Barbacoas, (2) Bahía de Cispatá, (3) Laguna de Navío Quebrado, (4) Ciénaga Grande de Santa Marta y (5) Golfo de Morrosquillo.

	1	2	3	4	5
1	0.00000 *				
2	0.00194 p = 0.27354 ± 0.0051	0.00000 *			
3	0.01135 p = 0.00465 ± 0.0007	0.01190 p = 0.00307 ± 0.0006	0.00000 *		
4	0.00561 p = 0.06841 ± 0.0025	0.01817 p = 0.00040 ± 0.0002	0.02066 p = 0.00000 ± 0.0000	0.00000 *	
5	0.05126 p = 0.00000 ± 0.0000	0.05553 p = 0.00000 ± 0.0000	0.06112 p = 0.00000 ± 0.0000	0.05968 p = 0.00000 ± 0.0000	0.00000 *

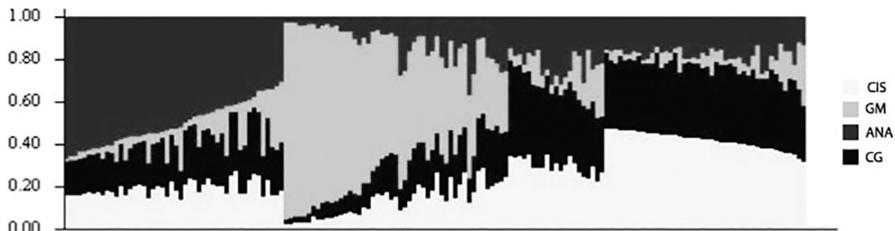


Figura 2. Asignación bayesiana de individuos a poblaciones inferido a través del programa Structure 2.0 (Pritchard *et al.*, 2002); CIS: Cispatá, GM: Golfo de Morrosquillo, ANA: Bahía de Barbacoas, CG: Ciénaga Grande de Santa Marta.

DISCUSIÓN

En el medio marino son la disponibilidad de nutrientes y la estabilidad del medio los factores decisivos que determinan que se constituyan los diversos paisajes: el primero se asocia con la productividad biológica, mientras la estabilidad en las condiciones ambientales se debe a influencias climáticas y oceanográficas, cuya fluctuación a lo largo de los siglos limita o hace posible que se originen ecosistemas complejos, lo cual a su vez determina la biodiversidad de estos mismos ambientes. De esta manera el Caribe colombiano presenta diversos ecosistemas y regiones que, así mismo, al estar determinados por algunos factores ambientales (corrientes y barreras físicas) y biológicos (comportamiento reproductivo) podrían generar una diversidad genética heterogénea al ser estos hábitats raramente continuos, influyendo en la capacidad de dispersión de algunas especies en un ámbito geográfico amplio durante su fase planctónica, facilitada por las corrientes oceanográficas (Féral, 2002). Muchos organismos marinos se desarrollan a través de una etapa larval, en la cual la mayoría de peces e invertebrados pueden ser potencialmente dispersados por corrientes, atravesando cualquier barrera potencial, siendo esta distancia entre 50 y 100 km (Palumbi, 1992, 2004). Esta diferenciación geográfica se ha observado en muchas especies marinas, incluyendo los camarones peneidos (García-Machado *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2001). Por esta misma razón, al estudiar la diversidad genética del camarón blanco *L. schmitti* en el Caribe colombiano, se deben tener en cuenta varios de estos factores para poder interpretar los índices de diversidad genética obtenidos en este estudio, así como la diferenciación significativa entre unidades poblacionales determinadas en los puntos de muestreo elegidos.

La población de CGSM tiene el menor valor de F_{is} , lo que es un indicativo de bajos índices de endogamia; así mismo presenta el mayor número de copias de diversos alelos. Por estas razones, sería posible inferir que esta es la unidad poblacional estudiada que presenta la mayor diversidad genética. Esto tiene aún más coherencia al tener en cuenta que la ecorregión de la CGSM es un sistema que recibe diversos afluentes, que aportan nutrientes y es un sistema que, a pesar de haber sufrido acciones antrópicas causantes de variaciones en su sistema hidráulico, con incrementos en la salinidad de sus suelos y el agua y el posterior impacto negativo en la fauna nativa (Marín-Zambrana, 2002), han permitido el desarrollo de una población, que debido a sus características genéticas, podrían aún mantener un nivel de explotación, pero que debe ser sostenible en el tiempo. La obtención de valores negativos de F_{is} indican una presencia de genotipos heterocigotos dentro de las poblaciones en todos los *loci*, con la excepción de los *loci* Lsch2 y CNM406, en los cuales se presentaron valores ligeramente superiores a cero, casos en los cuales se

presenta una reducción discreta del número de heterocigotos que, sin embargo, por estar dentro de los ámbitos estadísticamente aceptables no afecta significativamente el nivel de variabilidad genética. El valor promedio de F_{st} obtenido de -0.0440 indica la existencia de una diferenciación entre las poblaciones estudiadas, al mismo tiempo que indica una reducción en la proporción media de genotipos heterocigotos en todos los *loci* dentro de las poblaciones, esto a diferencia de lo observado en el estudio de Ball y Chapman (2003) quienes, usando seis *loci* microsatélite, estudiaron la diferenciación genética entre las poblaciones de *L. setiferus* del Atlántico norte y las del golfo de México, y encontrando un valor F_{st} de 0.002, con lo cual dedujeron que existía poca estructura genética en estas poblaciones y que se diferenciaban muy poco, lo cual puede ser explicado por una separación relativamente reciente.

Otro criterio importante que también se ha usado para cuantificar la variabilidad genética, permitiendo resumir la información a términos más manejables, es la heterocigosidad observada, siendo un buen estimador de la variabilidad genética, ya que se puede aplicar a cualquier especie independientemente de su estructura reproductiva o genética, por lo cual permite realizar comparaciones entre ellas (Chapuis y Estoup, 2007). De acuerdo con esta medida, la población de Navío Quebrado, ubicada en la ecorregión Guajira (GUA), presentó el mayor índice de heterocigosidad observada ($H_o = 0.89968$). Sin embargo, por tener esta medida poca sensibilidad al número y distribución de los alelos, se debe manejar con cuidado, sobre todo en el caso de la presencia de alelos nulos que, tal como se ha demostrado para otros camarones peneidos como *L. setiferus* (Ball *et al.*, 1998) y *Penaeus monodon*, cuya diversidad genética fue evaluada en el trabajo de Xu *et al.* (2001), quienes usando seis *loci* microsatélites polimórficos compararon dos poblaciones cultivadas, encontrando que la heterocigosidad observada de los seis *loci* variaba entre 0.47 y 1.00. También, en el trabajo de Espinosa *et al.* (2001), donde utilizaron los *loci* microsatélites Lsch1 y Lsch2 para comparar la diversidad genética en tres poblaciones naturales, encontraron valores de Heterocigosidad Observada/Heterocigosidad Esperada de 0.53/0.52 para Lsch1 y para Lsch2 0.57/0.69. Igualmente, en el trabajo de Freitas *et al.* (2007) quienes, con ocho *loci* microsatélites polimórficos para *L. vannamei*, encontraron heterocigosidad observada con valores entre 0.18 y 0.89. Para efectos de aplicabilidad práctica, estos valores bajos de diversidad genética mostrarían efectos negativos por la baja variabilidad, con lo que se presentaría una disminución de la eficacia biológica y del potencial adaptativo ante cambios y presión del ambiente, por lo que existirían serios riesgos de tipo genético para la persistencia de las especies (Frankham, 2005).

Los análisis de diversidad genética en conjunto con los de estructura genética, permitieron observar la existencia de diferencias significativas entre las

distintas poblaciones de camarón blanco y, tal como se observó a través del análisis con Structure 2.0, existe un cierto nivel de aislamiento genético definido por el alto nivel de resolución obtenido a través de marcadores hipervariables, como lo son los marcadores microsatélites (Felizola Diniz-Filho *et al.*, 2008; Frantz *et al.*, 2009). En este caso se sugiere la posible diferenciación de varias unidades poblacionales, una definida por el agrupamiento de las poblaciones de CGSM, bahía de Barbacoas y bahía de Cispatá, lo cual puede estar influido por las corrientes ahí presentes, otra por el golfo de Morrosquillo y otra por la población de Navío Quebrado. Este patrón de diferenciación podría estar influido por los patrones de corrientes oceanográficas en el Caribe colombiano, donde la corriente del giro Colombia-Panamá podría estar ayudando a la dispersión larval en sentido hacia el norte y, por otro lado, las poblaciones de Navío Quebrado y CGSM podrían estar siendo influenciadas por la corriente del Caribe que entra en sentido norte-sur. Con base en el resultado obtenido, en el que se observó que la población del golfo de Morrosquillo no se agrupó con ninguna de las otras, se infiere que probablemente esta población podría provenir del golfo de Urabá, donde también se desarrolla actividad camaronera, y llegaría hasta esta área gracias a las corrientes ahí presentes (Viaña y Manjarrés, 2004; CCI, 2009). Los resultados obtenidos en el presente trabajo deben ser tomados en cuenta al momento de tomar decisiones de protección de humedales, por ser estos los bancos de reproductores de *L. schmitti*, y de control sobre las actividades de pesca, con el fin de mantener un tamaño efectivo de población y así mantener la diversidad genética, ya que una drástica reducción de esta podría resultar en pérdida de la heterocigosidad e incrementar la susceptibilidad a enfermedades y otros factores selectivos que conllevarían a un franco decrecimiento del tamaño poblacional (Hartl y Clark, 1997). Igualmente, se debe tener en cuenta la diferenciación genética entre las tres localidades estudiadas, lo que puede ser el resultado de barreras geográficas y oceanográficas; ninguna de las cuales puede ser excluida del panorama de toma de decisiones y de designación de áreas protegidas y de planes de desarrollo y conservación.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se realizó en el marco del proyecto “Identificación de humedales prioritarios para la protección de los estadios tempranos de vida del camarón de aguas someras en Colombia desde una perspectiva ecogenética”, desarrollado por el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar) con la cofinanciación de Ecopetrol S.A., a través del convenio de colaboración DHS No. 133-09. Agradecemos al Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC) por el suministro de los tejidos utilizados en este estudio. Agradecimientos a Juan Carlos Narvárez por

facilitar el acceso a algunos equipos del Laboratorio de Genética Molecular de la Universidad del Magdalena, y al Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia por los servicios y asesoría prestados para el análisis automatizado de microsatélites. Finalmente, agradecemos a los revisores anónimos que contribuyeron con sus comentarios a mejorar el documento.

BIBLIOGRAFÍA

- Ball, A.O. y R.W. Chapman. 2003. Population genetic analysis of white shrimp, *Litopenaeus setiferus* using microsatellite genetic markers. *Mol. Ecol.*, 12: 2319-2330.
- Ball, A.O., S. Leonard y R.W. Chapman. 1998. Characterization of (GT)*n* microsatellites from native white shrimp (*Penaeus setiferus*). *Mol. Ecol.*, 7: 1251-1253.
- Borrell, Y., G. Espinosa, J. Romo, G. Blanco, E. Vázquez y J.A. Sánchez. 2004. DNA microsatellite variability and genetic differentiation among natural populations of the Cuban white shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Mar. Biol.*, 144: 327-333.
- CCI. 2009. Eventos oceanográficos que influyen en la pesca del Caribe colombiano. Boletín Semanal Sistema de Información de Precios y Mercados para la Producción Acuícola y Pesquera, Vol. 5 No. 2, Corporación Colombia Internacional, Bogotá. 138 p.
- Chapuis, M.P. y A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.*, 24(3): 621-631.
- Cruz, P.C., H. Mejía-Ruiz, R. Pérez-Enríquez y A.M. Ibarra. 2002. Isolation and characterization of microsatellites in Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Mol. Ecol. Notes*, 2(3): 239-241.
- Cruz, P., A.M. Ibarra, H. Mejía-Ruiz, P.M. Gaffney y R. Pérez-Enríquez. 2004. Genetic variability assessed by microsatellites in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Mar. Biotechnol.*, 6: 157-164.
- Dayton, P.K., S.F. Thrush, T. Agardy y R.J. Hofman. 1995. Viewpoint: Environmental effects of marine fishing. *Aq. Conserv.: Mar. Freshwater Ecosyst.*, 5: 205-232.
- Dong, S., J. Kong, T. Zhang, X. Meng y R. Wang. 2006. Parentage determination of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) based on microsatellite DNA markers. *Aquaculture*, 258: 283-288.
- Espinosa G., M. Jager, E. García-Machado, Y. Borrell, N. Corona, A. Robainas y J. Deutsch. 2001. Microsatellites from the white shrimp *Litopenaeus schmitti* (Crustacea, Decapoda). *Biotechnol. Apl.*, 18: 232-234.
- Espinosa, G., R. Díaz-Fernández, U. Bécquer, J. Matos, J. Romo y Y. Borrell. 2003. Análisis poblacional del camarón blanco cubano (*Litopenaeus schmitti*) utilizando aloenzimas como marcadores genéticos. *Rev. Invest. Mar.*, 24(1): 11-16.
- Evanno, G., S. Regnaut y J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. *Mol. Ecol.*, 14: 2611-2620.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2000. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinformatics*, 1: 47-50.
- Felizola Diniz-Filho, J.A., M. Pires de Campos Telles, S.L. Bonatto, E. Eiziri, T.R.O. De Freitas, P. de Marco Jr, F.R. Santos, A. Sole-Cava y T.N. Soares. 2008. Mapping the evolutionary twilight zone: molecular markers, populations and geography. *J. Biogeogr.*, 35: 753-763.



- Féral, J.P. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? Review article. *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.*, 268: 121-145.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Review. Biol. Conserv.*, 126: 131-140.
- Frantz, A.C., S. Cellina, A. Krier, L. Schley y T. Burke. 2009. Using Bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: cluster or isolation by distance? *J. App. Ecol.*, 46: 493-505.
- Freitas, P.D., C.M. Jesus y P.M. Galetti. 2007. Isolation and characterization of new microsatellite *loci* in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* and cross-species amplification in other penaeid species. *Mol. Ecol. Notes*, 7: 324-326.
- Gao H., J. Kong, B.L. Yan, F. Yu, S. Luan y S. Cai. 2008. Twelve new microsatellite markers for the Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Mol. Ecol. Res.*, 8: 325-327.
- García-Machado, E., A. Robainas, G. Espinosa, M. Oliva, J. Páez, N. Verdecia y M. Monnerot. 2001. Allozyme and mitochondrial DNA variation in Cuban populations of the shrimp *Farfantepenaeus notialis* (Crustacea: Decapoda). *Mar. Biol.*, 138: 701-707.
- Hartl, D. y A.G. Clark. 1997. Principles of population genetics. Cuarta edición, Sinauer Associates, Publishers, Sunderland, EE.UU. 565 p.
- Li, Y., K. Wongprasert, M. Shekhar, J. Ryan, L. Dierens, J. Meadows, N. Preston, G. Coman y R.E. Lyons. 2007. Development of two microsatellite multiplex systems for black tiger shrimp *Penaeus monodon* and its application in genetic diversity study for two populations. *Aquaculture*, 266: 279-288.
- Luttikhuisen, P.C., J. Campos, J. van Bleijswijk, K.T.C.A. Peijnenburg y H.W. van der Veer. 2008. Phylogeography of the common shrimp, *Crangon crangon* (L.) across its distribution range. *Mol. Phylog. Evol.*, 46: 1015-1030.
- Maggioni R., A.D. Rogers y N. MacLean. 2003. Population structure of *Litopenaeus schmitti* (Decapoda: Penaeidae) from the Brazilian coast identified using six polymorphic microsatellite loci. *Mol. Ecol.*, 12: 3213-3217.
- Marín-Zambrana, B.G. 2002. Las aguas de mi Ciénaga Grande. Descripción de las condiciones ambientales de la Ciénaga Grande de Santa Marta. Serie de Documentos Generales del Invenmar No. 7, Santa Marta. 36 p.
- Mathews, L.M. 2007. Variable microsatellite markers for a snapping shrimp (*Alpheus armillatus*) species complex. *Mol. Ecol. Notes*, 7: 471-473.
- Meng, X.H., Q.Y. Wang, I.K. Jang, P. Liu y J. Kong. 2009. Genetic differentiation in seven geographic populations of the fleshy shrimp *Penaeus (Fenneropenaeus) chinensis* based on microsatellite DNA. *Aquaculture*, 287: 46-51.
- Palumbi, S.R. 1992. Marine speciation on a small planet. *Tree*, 7: 114-18.
- Palumbi, S.R. 2004. Marine reserves and ocean neighborhoods: The spatial scale of marine populations and their management. *Ann. Rev. Environ. Res.*, 29: 31-68.
- Pérez, F., J. Ortiz, M. Zhinaula, C. Gonzabay, J. Calderón y F. Volckaert. 2005. Development of ESTSSR markers by data mining in three species of shrimp: *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus stylirostris*, and *Trachypenaeus birdy*. *Mar. Biotech.*, 7: 554-569.
- Pérez-Enríquez, R., F. Hernández-Martínez y P. Cruz. 2009. Genetic diversity status of white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* broodstock in Mexico. *Aquaculture*, 297: 44-50.

- Piñeros, V.E. y P.A. Sieguert. 1981. La pesquería del camarón en el Caribe colombiano. Tesis Biólogo Marino, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Cartagena. 57 p.
- Pritchard, J.K., M. Stephens y P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Raymond, M. y F. Rousset. 1995. Genepop (versión 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenism. *J. Hered.*, 86: 248-249.
- Roldán, M.I., S. Heras, R. Patellani y F. Maltagliati. 2009. Analysis of genetic structure of the red shrimp *Aristeus antennatus* from the western Mediterranean employing two mitochondrial regions. *Genetics*, 136: 1- 4.
- Rueda, M., J.A. Angulo, N. Madrid, F. Rico y A. Girón. 2006. La pesca industrial de arrastre de camarón en aguas someras del Pacífico colombiano: su evolución, problemática y perspectivas hacia una pesca responsable. Serie de Publicaciones Especiales del Invemar No. 8, Santa Marta. 60 p.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Segunda edición, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York. 1659 p.
- Van Oosterhout, C., W.F. Hutchinson, D.P.M. Wills y P. Shipley. 2004. Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes.*, 4: 535-538.
- Viaña, J. y L. Manjarrés. 2004. Inventario y caracterización general de la flota industrial de arrastre que operó en la zona norte del Caribe colombiano durante el año 2000. 125-135 En: Manjarrés, L. (Ed.). Pesquerías demersales del área norte del mar Caribe de Colombia y parámetros biológicos pesqueros y poblacionales del recurso pargo. Universidad del Magdalena, Santa Marta. 318 p.
- Wang, H., F. Li y J. Xiang. 2005. Polymorphic EST-SSR markers and their mode of inheritance in *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture*, 249: 107-114.
- You, E.M., T.S. Chiu, K.F. Liu, A. Tassanakajon, S. Klinbunga, K. Triwitayakorn, L.D. de la Peña, Y. Li y H.T. Yu. 2008. Microsatellite and mitochondrial haplotype diversity reveals population differentiation in the tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Indo-Pacific region. *Animal Gen.*, 39: 267-277.
- Xu, Z., J.H. Primavera, L.D. de la Peña, P. Pettit, J. Belak y A. Alcívar-Warren. 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in the Philippines using microsatellites. *Aquaculture*, 199: 13-40.

RECIBIDO: 12/03/2014

ACEPTADO: 02/10/2014

