

## ÍNDICE

1. Introducción -----	1
2. Fundamento teórico -----	3
2.1 Generalidades de la langosta espinosa -----	3
2.1.1 Nomenclatura -----	3
2.1.2 Clasificación taxonómica-----	3
2.1.3 Distribución geográfica -----	4
2.1.4 Descripción biológica del recurso-----	5
2.1.5 Ciclo de vida-----	9
2.1.6 Hábitat-----	10
2.1.7 Importancia del recurso -----	11
2.1.8 Problemática -----	12
2.2 Variabilidad genética -----	12
2.2.1 Diferencias fenotípicas -----	12
2.2.2 Estudios moleculares -----	13
2.2.3 Estudios genéticos de la langosta espinosa <i>P. argus</i> -----	13
2.2.4 Marcadores moleculares -----	15
2.2.5 Tipos de marcadores-----	16
2.2.5.1 SSR (Secuencias Simples Repetidas) o Microsatélites-----	16
2.2.5.2 RAPD (ADN Polimórfico Amplificado al Azar) -----	16
2.2.5.3 RFLPs (Polimorfismo en la Longitud de Fragmentos de Restricción)-----	17
2.2.5.4 AFLPs (Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos Amplificados) -----	17
2.2.6 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) -----	19
2.2.7 Electroforesis-----	20
2.2.8 Métodos de detección de fragmentos amplificados-----	21
3. Justificación-----	22
4. Objetivo general -----	23
5. Objetivos particulares -----	23
6. Hipótesis-----	24
7. Materiales y métodos -----	25
7.1 Estrategia Experimental -----	25
7.2 Sitios de colecta-----	26
7.3 Identificación del tejido -----	28

7.4 Extracción de ADN -----	29
7.4.1 Estandarización del protocolo de extracción -----	29
7.4.2 Extracción de ADN genómico modificando el Método de Sílica-----	29
7.5 Desarrollo del marcador molecular AFLPs -----	31
7.5.1 Digestión con enzimas de restricción-----	31
7.5.2 Ligación con adaptadores EcoRI y Msel-----	31
7.5.3 Preamplificación-----	32
7.5.4 Combinación de cebadores específicos -----	32
7.5.5 Amplificación selectiva-----	33
7.6 Corridas de las muestras en el Secuenciador Automático -----	33
7.7 Análisis de datos-----	34
7.8 Análisis con NTSyS -----	34
8. Resultados y discusión -----	36
8.1 Determinación de las condiciones de trabajo -----	36
8.2 Estandarización del método de extracción de ADN genómico -----	36
8.3 Extracción del ADN genómico con el método de sílica estandarizado-----	38
8.4 Digestión-ligación con enzimas de restricción Msel y EcoRI -----	39
8.5 Preamplificación -----	40
8.6 Evaluación de los cebadores específicos -----	41
8.7 Análisis de la matriz binaria-----	42
8.8 Análisis de los índices de similitud-----	44
8.9 Análisis del dendrograma -----	45
9. Conclusiones -----	48
10. Perspectivas -----	49
11. Bibliografía -----	50
12. Abreviatura -----	57
13. Apéndice -----	59

## 1. Introducción

La especie objeto de este estudio es la langosta *Panulirus argus*, comúnmente conocido como langosta espinosa o del caribe. Es un crustáceo perteneciente a la familia *Palinuridae*. Entre sus características generales que la distingue se encuentran: primer par de pleópodos sin pinzas, carapacho casi cilíndrico, antenas largas en forma de látigos, ojos pedunculados, dos cuernos en la región frontal y presenta dos pares de manchas blancas grandes en los segmentos abdominales. Esta especie posee uno de los rangos de distribución más amplios de todos los palinúridos conocidos, el cual, se distribuye en el Atlántico oeste desde las costas de Carolina del Norte hasta Brasil, incluyendo las Bahamas, Bermuda, Yucatán y el Caribe, esto debido a que presenta un ciclo de vida muy complejo que incluye una fase larvaria muy larga de 11 estadios a merced de las corrientes marinas durante 9 meses. Estos organismos realizan tres tipos de movimientos: nocturnos (alimentación), migraciones en masa y movimientos nomádicos al azar.

*Panulirus argus* se ha considerado uno de los recursos marinos más explotados artesanalmente de mayor interés económico y pesquero en Yucatán y Quintana Roo, por lo que son fundamentales y merecen atención especial. Para ello, se utilizaron las herramientas moleculares, las cuales han sido de gran utilidad para evaluar la diversidad genética dentro y entre las diferentes poblaciones de especies marinas, ya que hasta la fecha existe una total carencia de estudios moleculares y genéticos para la evaluación de la diversidad genética de esta especie, la cual nos puede ayudar a establecer parámetros de la misma y también a interpretar los efectos causados por las corrientes oceánicas, las condiciones ambientales que participan en la dispersión y la adaptación de las larvas, así como conocer la variabilidad genética en dos sitios de la Península de Yucatán. Los marcadores que se emplearon para llevar a cabo este trabajo fueron los AFLP por sus siglas en inglés (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), los cuales, permiten evaluar en la misma región la variación entre organismos de la misma especie, determinar la diversidad entre familias y poblaciones; establecer líneas de pedigree; y toda la información que puede servir