

QB³²
Quaderns blaus
DOCUMENTS DE TREBALL

La gamba de Palamós. Los genes al descubierto

María Inés Roldán
María Victoria Fernández
Sandra Heras
Universitat de Girona
Laboratorio de Ictiología Genética.

QB32

La gamba de Palamós.
Los genes al descubierto

María Inés Roldán
María Victoria Fernández
Sandra Heras

Laboratorio de Ictiología Genética.
Universitat de Girona

Edita

Càtedra d'Estudis Marítims
(Universitat de Girona – Fundació Promediterrània)
Museu de la Pesca

© del text els autors

Col·lecció

Quaderns Blaus; 32

Assessorament lingüístic

Teresa Cuadrado

Disseny de les cobertes

Lluís Pareas Disseny Gràfic

Imprès a Catalunya per Impremta Aubert

Dipòsit Legal

GI 616-2016

Es prohibeix la reproducció total o parcial d'aquesta obra, en qualsevol de les seves formes, gràfica o audiovisual, sense autorització prèvia i escrita de l'editor, llevat de citacions a revistes, diaris o llibres, sempre que es faci esment de la seva procedència.

Laboratori d'Ictiologia Genètica - Universitat de Girona



Aquesta publicació s'inclou en el projecte CTM2014-54648-C2-2-R.
finançat pel Ministerio de Economía y Competitividad,

Editen



Amb el suport de:



Sumario

Glosario	5
La genética y las poblaciones naturales	7
La gamba de Palamós: una gamba roja	7
Valor culinario en el Mar Mediterráneo	10
Importancia pesquera de <i>Aristeus antennatus</i> en el Mar Mediterráneo.....	11
La genética en los estudios pesqueros.....	12
Marcadores genéticos utilizados en la gamba roja	13
Resultados genéticos obtenidos hasta el momento	18
Implicaciones para la gestión de las pesquerías y la sostenibilidad del recurso	29
Inconvenientes.....	29
Consideraciones finales	31

Glosario

ADN: ácido desoxirribonucleico. En inglés: DNA.

ADN mitocondrial: ácido desoxirribonucleico de la mitocondria.

Alelo: cada una de las formas alternativas de un gen en un *locus* dado.

Alozimas: expresión electroforética de las variantes alélicas de una proteína en un *locus* dado.

Cebador o primer: fragmento corto de ADN que se une a una zona específica del genoma.

Codominancia: expresión simultánea de dos alelos dominantes.

Cromosoma: cada una de las estructuras que contienen los genes y que están constituidas por ADN y proteínas.

Diploide: organismo que contiene dos copias de cromosomas, uno de cada progenitor, en el núcleo de sus células. La gamba roja es diploide.

Fenotipo: lo que se ve, se observa de un gen en un individuo.

F_{ST}: índice que mide la diferenciación genética entre poblaciones.

Gen: segmento de ADN que codifica una cadena polipeptídica.

Genoma: conjunto de genes de un individuo o de una especie.

Genotipo: constitución genética de un individuo para un *locus* dado.

Genética de la conservación: rama de la genética que aplica métodos genéticos para la recuperación y conservación de la biodiversidad.

Haplogrupo: grupo de secuencias mitocondriales muy relacionadas entre sí.

Haplotipo: término utilizado para las diferentes secuencias obtenidas en el análisis del ADN mitocondrial.

Locus: lugar que ocupa un gen en un cromosoma. Plural: *loci*.

Mitocondria: organela citoplasmática de la célula eucariota que tiene como principal función la producción de energía.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa. Técnica genética que permite obtener muchas copias del marcador molecular o de un fragmento de ADN.

Polimórfico: gen que presenta dos o más alelos en la población o en la especie.

Termociclador: Aparato que permite realizar la PCR.

Svedberg: unidad del coeficiente de sedimentación de una molécula cuando es centrifugada. En honor al científico sueco Theodor Svedberg inventor de la ultracentrífuga.

Φ_{ST} : índice que mide la diferenciación genética entre poblaciones.

La genética y las poblaciones naturales

La Genética es la rama de la ciencia que se ocupa del estudio de la herencia y de las bases hereditarias de los organismos vivos tanto animales como vegetales. Así, el estudio de los genes, su función, su estructura y su variación se puede realizar a diferentes niveles, a nivel celular, a nivel de individuos de una especie determinada o a nivel poblacional. Los estudios a nivel poblacional han convergido en una subdisciplina, denominada Genética de poblaciones o Genética evolutiva y es en este campo de la genética donde nos centraremos a lo largo de estas páginas, particularmente en las poblaciones de la gamba roja, *Aristeus antennatus*.

La gamba de Palamós: una gamba roja

La gamba de Palamós es una gamba roja cuyo nombre científico es *Aristeus antennatus*. La primera descripción y caracterización morfológica la realizó el ictiólogo francés Antoine Risso en 1816. Pertenece al grupo de los crustáceos decápodos (Tabla 1), dicho de otra manera, son animales invertebrados con diez patas que presentan

esqueleto externo. En este grupo también se encuentran otros organismos marinos explotados como la langosta y la cigala. *Aristeus antennatus* presenta unos colores muy característicos mayoritariamente el rojo con zonas entre azul y violeta que se observan nítidamente en fresco y por los cuales en inglés se denomina *blue and red shrimp*. Además de los colores, presenta varios caracteres diagnóstico entre los cuales el más fácil de observar es la presencia de tres espinas en el rostro (Foto 1). Para aquellos lectores que les interese la descripción morfológica en más detalle les recomendamos consultar Fischer *et al.*, 1981.

Orden Decapoda Latreille 1802 (*Deca* = diez, *poda* = patas)

Suborden Dendrobranchiata Bate 1888

Superfamilia Penaeoidea Rafinesque 1815

Familia Aristeidae Wood-Mason 1891

Genero *Aristeus* Duvernoy 1840

Aristeus alcocki Ramadan 1938

***Aristeus antennatus* Risso 1816**

Aristeus antillensis Milne-Edwards
& Bouvier 1909

Aristeus pallidicauda Komai 1993

Aristeus semidentatus Bate 1881

Aristeus varidens Holthius 1952

Aristeus virilis Bate 1881

Tabla 1. Clasificación biológica de la gamba roja *Aristeus antennatus* según De Grave y Fransen, 2011.

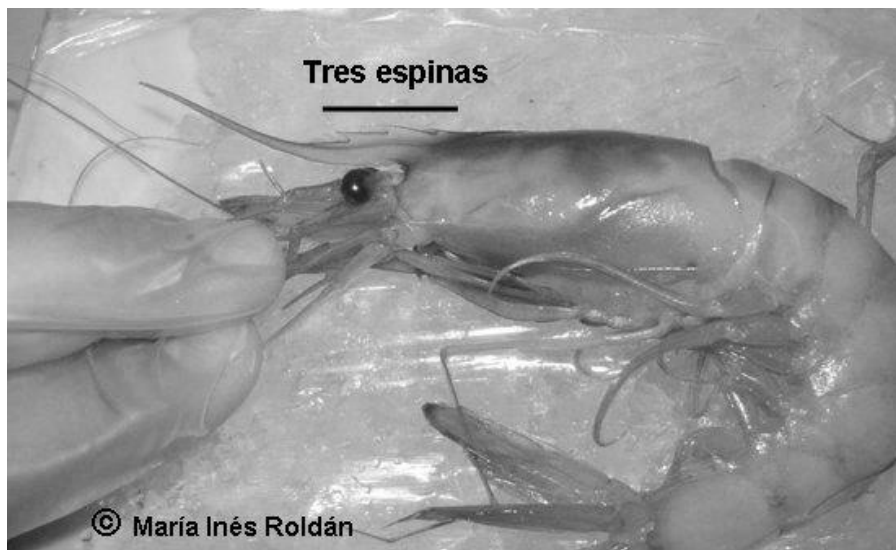


Foto 1. Un ejemplar fresco de *Aristeus antennatus*

Aristeus antennatus se distribuye a lo largo del Mar Mediterráneo tanto en su cuenca oriental como en la cuenca occidental y en las aguas atlánticas adyacentes al estrecho de Gibraltar, llegando a alcanzar la costa portuguesa. Menos conocida es su distribución en aguas del Océano Índico, donde se la ha detectado a todo lo largo del Canal de Mozambique hasta la costa norte de Sudáfrica. Dentro del Mar Mediterráneo, los principales caladeros se localizan en la cuenca occidental debido a, entre otros factores, su mayor abundancia respecto a la cuenca oriental (Figura 1).

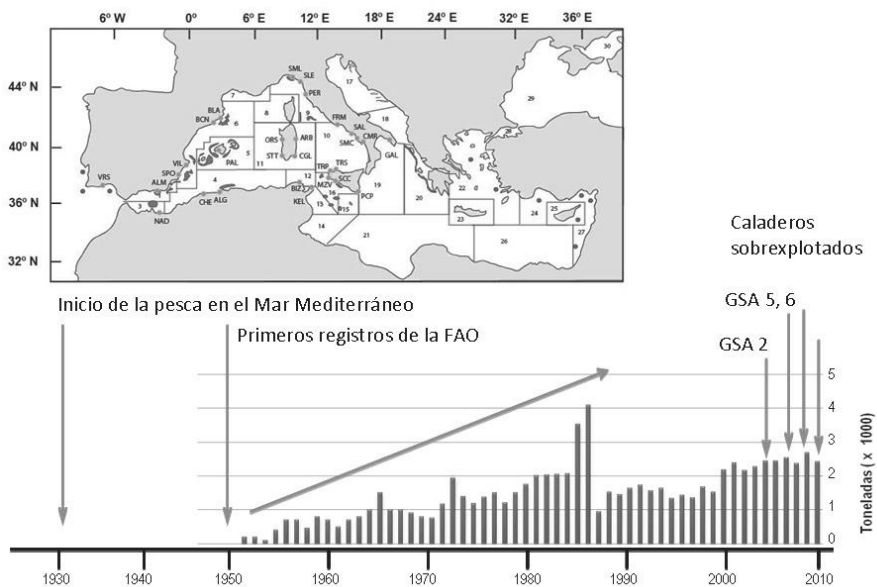


Figura 1. Localización geográfica de los principales caladeros mediterráneos de las gambas rojas *Aristeus antennatus* y *Aristaeomorpha foliacea* y puertos donde se desembarcan según Fernández, 2012. Abajo se muestra la evolución de las capturas de las gambas rojas *Aristeus antennatus* y *Aristaeomorpha foliacea*, en el Mar Mediterráneo según FAO, 2012.

Valor culinario en el Mar Mediterráneo

Desde el punto de vista culinario, la gamba roja es muy valorada en la cocina catalana especialmente en los fogones de la costa por dos características organolépticas principales: su delicado sabor y su suave textura. Estas características que son muy notables cuando la gamba está recién pescada, también son reconocidas a lo largo de la costa mediterránea tanto española como italiana o francesa. De ahí la importancia del tratamiento que la Cofradía de Palamós pone en marcha desde que la gamba se pesca hasta que llega al consumidor. Este procedimiento de calidad, que se realiza solamente en aquellas gambas que se comercializan en el puerto de Palamós, se desarrolló

para que las propiedades y las características que la hacen tan preciada se mantengan en óptimas condiciones hasta llegar a las cocinas de restaurantes y de nuestras casas. Dicho proceso es el que da origen al nombre Gamba de Palamós y que constituye la marca de garantía. Por ello, cuando se habla de gamba de Palamós es exclusivamente de la gamba que ha recibido el tratamiento de calidad, y cuando se habla de gamba roja se refiere a la misma especie biológica pero comercializada en cualquiera de los puertos mediterráneos a lo largo de su distribución.

El plato de gamba roja de Palamós y butifarra con corazones de alcachofa del chef catalán Sergi Arola es uno de los muchos ejemplos en donde la gamba de Palamós se encuentra en los platos de la cocina catalana con proyección internacional. Además, la gamba roja es muy apreciada en la excelente cocina italiana donde se la conoce con el nombre de *gambero viola*, como podemos ver en las diferentes y atractivas recetas del chef italiano Andrea Zinno en su web trapignatteesgommarelli.com

Importancia pesquera de *Aristeus antennatus* en el Mar Mediterráneo

La pesquería de la gamba roja en el Mar Mediterráneo comienza en la década de 1930 en Italia más concretamente en el Mar Ligure, juntamente con otra gamba roja, la *Aristaeomorpha foliacea*. Los registros conjuntos de captura de estas dos especies y la evolución de las mismas se muestran en la Figura 1. En los años 40, la explotación se extiende al Golfo de León, la costa catalana y las Islas Baleares. A medida que las flotas y las tecnologías de extracción se fueron perfeccionando, fundamentalmente en el Mediterráneo occidental, las capturas incrementaron hasta que en 1970 se detectó el primer signo

de caída de las capturas. Desde los años 80, el número de capturas promedio es de 2000 toneladas anuales y algunos caladeros han sido temporalmente considerados sobreexplotados.

Cabe mencionar que *Aristeus antennatus* también se pesca en aguas portuguesas cercanas al Estrecho de Gibraltar, aunque sus capturas son muy reducidas. Además desde el 2001, Mozambique explota los caladeros localizados en el Canal de Mozambique bajo su jurisdicción mediante convenios internacionales bilaterales con Japón, Portugal y España. La gamba roja que allí se pesca se comercializa en Europa y Japón congelada, proceso que se realiza a bordo de los barcos pesqueros que operan en la zona.

La genética en los estudios pesqueros

Los primeros análisis genéticos en organismos marinos explotados se realizaron en la década de 1970 en dos grupos de peces que habitan las costas pacíficas de América del Norte, los salmones del género *Oncorhynchus* y la merluza del pacífico, *Merluccius productus*. Estos análisis que se realizaron en los Estados Unidos de América, sentaron las bases de una nueva disciplina científica que conocemos con el nombre de *Fisheries genetics* o Genética de las pesquerías. El Dr. Fred M. Utter, padrino de nuestro laboratorio y primer Doctor Honoris causa de la UdG, es el padre fundador de esta disciplina al ser pionero en aplicar el conocimiento de la genética de las poblaciones de peces marinos utilizando marcadores genéticos, a la mejora de la gestión de sus pesquerías. Una vez obtenida su tesis doctoral en el año 1969 en la *University of California at Davis*, organizó y lideró durante 30 años el laboratorio de genética en el *Northwest Fishery Science Center*, Seattle, USA desde donde se extendió la disciplina a otros centros de investigación y académicos de todo el mundo. Como consecuencia de

ello, a partir de la década de 1980 y hasta la actualidad los estudios de las poblaciones de organismos marinos dieron un giro de 180 grados debido a la aplicación de los marcadores genéticos que revelaron divergencias entre poblaciones no detectadas hasta ese momento con los métodos biológicos clásicos. Detectar divergencias entre poblaciones es crucial para la gestión de las pesquerías ya que permite la identificación de las unidades de gestión denominadas stocks genéticos (Benzie, 2000; FAO, 1994). Para identificar los stocks genéticos de la gamba roja es imprescindible conocer el grado de aislamiento genético entre las poblaciones, también conocido como la conectividad genética entre poblaciones. Una adecuada gestión del recurso pesquero permite la conservación del mismo y favorece la sostenibilidad pesquera a largo plazo. La conservación de los recursos pesqueros en este caso la gamba roja no solo es importante para la conservación de la especie en sí misma, sino también para el mantenimiento de un sector social y económico importante en muchas localidades costeras.

Marcadores genéticos utilizados en la gamba roja

¿Qué es un marcador genético?

Un marcador genético es una molécula, por ejemplo una proteína o un fragmento de ADN, variable o polimórfico que es útil para identificar especies o poblaciones.

Los marcadores genéticos desarrollados hasta la fecha para la gamba roja en nuestro laboratorio y aplicados en estudios poblacionales se resumen en la Tabla 2. Los primeros marcadores genéticos desarrollados fueron las alozimas mediante la técnica de electroforesis de proteínas. La electroforesis de proteínas es una técnica de

separación de proteínas mediante un campo eléctrico el cual se aplica a un soporte fijo en este caso un gel de almidón al 11%. Así, las proteínas extraídas de cada individuo se moverán en el gel de almidón dependiendo de su peso molecular y su carga eléctrica. Una vez finalizada la electroforesis el gel se tiñe con tinciones específicas para cada proteína para poder visualizarlas y realizar el genotipado de los individuos. Las alozimas son formas diferentes de una misma enzima funcional codificada por un determinado gen. Los fenotipos electroforéticos son expresiones codominantes de los respectivos genotipos pudiéndose así identificar todos los alelos presentes en un individuo. La relación directa entre fenotipos electroforéticos y genotipos mendelianos es un atributo muy importante que permite aplicar los datos alozímicos a estudios de genética de poblaciones, o a estudios de identificación de especies (ver detalles en el QB008).

Marcadores genéticos empleados	Trabajos realizados en el LIG
Alozimas	Bas <i>et al.</i> , 1992; Pla <i>et al.</i> , 1995; Sardà <i>et al.</i> , 1998.
Gen mitocondrial 16S rDNA	Patellani 2007; Turco 2009; Fernández <i>et al.</i> , 2011; Maltagliati <i>et al.</i> , 2008; Roldán <i>et al.</i> , 2009, Roldán 2009b; Sardà <i>et al.</i> , 2010;
Gen mitocondrial COI	Patellani 2007; Turco 2009; Fernández <i>et al.</i> , 2011; Maltagliati <i>et al.</i> , 2008; Roldán <i>et al.</i> , 2009; Roldán 2009a.
Genes nucleares: PEPCK (fosfoenolpiruvato carboxiquinasa) NaK (sodio-potasio ATPasa, subunidad alfa)	Fernández <i>et al.</i> , 2013

Tabla 2. Marcadores genéticos aplicados y trabajos científicos realizados en el Laboratorio de Ictiología Genética de la UdG sobre la genética de poblaciones de *Aristeus antennatus*.

Después de algunos años, y gracias al avance de la tecnología disponible, tanto a nivel de instrumental de laboratorio como informático para el análisis de datos, comenzamos a desarrollar modernos marcadores genéticos: los marcadores de ADN mitocondrial. El ADN mitocondrial es una molécula circular de tamaño y orden de genes bien conocido y estudiado en humanos, en vertebrados y en algunos invertebrados. Los marcadores mitocondriales están localizados en el ADN mitocondrial, que es el ADN de las mitocondrias. En el año 2006, comenzamos a trabajar con dos marcadores mitocondriales que habían dado resultados exitosos en poblaciones de peces marinos y que eran de nueva aplicación para la especie: el gen que codifica para el ADN ribosomal de 16 Svedberg (16S rDNA) y el gen que codifica para la Citocromo c Oxidasa I (COI). Estos dos genes o marcadores genéticos no habían sido estudiados previamente en *Aristeus antennatus* en ningún laboratorio de investigación genética, por lo cual estábamos sentando las bases de una nueva línea de investigación que continúa hasta la actualidad y que se ha extendido a otros laboratorios europeos interesados en esta especie.

En la Figura 2 se muestra de manera esquemática todo el proceso para obtener la secuencia de bases de ADN que consta de varios pasos. En el primer paso se extrae el ADN del músculo de cada individuo según el método de fenol: cloroformo. Una vez seleccionado el marcador genético, en este caso un marcador mitocondrial, se realiza la amplificación del mismo utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando un termociclador (Foto 2). La amplificación permite obtener muchas copias del mismo fragmento y se realiza mediante la acción del enzima polimerasa y unos cebadores o *primers* específicos para cada marcador. Posteriormente, se realiza la reacción de secuenciación que permitirá la lectura de las bases

nucleotídicas mediante un analizador de genes o secuenciador automático de genes (Foto 3). Estos resultados son almacenados en un ordenador para una vez obtenidas las secuencias del marcador genético para todos y cada uno de los individuos, realizar el análisis estadístico de los datos.

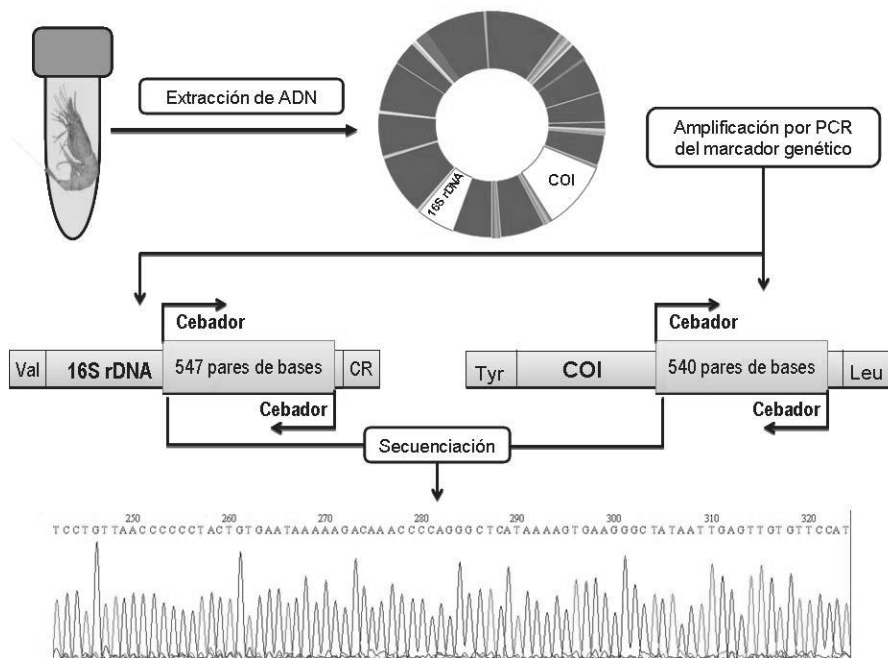


Figura 2. Representación esquemática sintetizando los pasos desde la extracción de ADN del individuo hasta la obtención de la secuencia de bases del marcador genético.

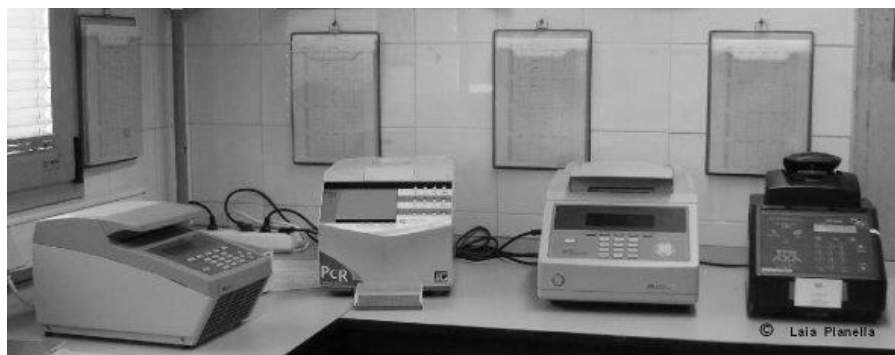


Foto 2. Visión general de los termocicladores del Laboratorio de Ictiología Genética de la UdG donde se han llevado a cabo las reacciones en cadena de la polimerasa para amplificar el ADN.



Foto 3. Visión general del secuenciador automático de genes del Laboratorio de Ictiología Genética de la UdG.

Finalmente, con la misma metodología descrita anteriormente para los marcadores mitocondriales hemos estudiado dos genes nucleares,

PEPCK y NaK en diferentes poblaciones de gamba roja. Estos marcadores moleculares juntamente con el marcador mitocondrial COI se utilizaron en el análisis taxonómico conjunto con dos especies afines de gambas, *Aristeus virilis* y *Aristaeomorpha foliacea*.

Resultados genéticos obtenidos hasta el momento

A lo largo de todos los años de trabajo con la gamba roja, hemos realizado una gran variedad de estudios genéticos con objetivos diferentes y utilizando marcadores moleculares diversos y apropiados para cada caso. Por ello, creemos conveniente presentar los resultados organizados por objetivo científico. Primero hablaremos de los estudios geográficos realizados con marcadores nucleares, las alozimas, y mitocondriales, luego explicaremos el estudio batimétrico y finalmente el estudio taxonómico.

Análisis geográfico: alozimas

En el primer estudio poblacional llevado a cabo con métodos genéticos se estudió la variabilidad genética en individuos pertenecientes a 11 localidades a lo largo de su distribución mediterránea, con el fin de conocer el grado de diferenciación de las poblaciones (Figura 3). Dado que no había publicaciones previas en la gamba roja con esta metodología, se realizó una búsqueda exhaustiva de marcadores enzimáticos en los tejidos susceptibles de extraer enzimas en suficiente cantidad: en el tejido muscular y en el hepatopáncreas. Así, se desarrollaron los marcadores enzimáticos para 27 enzimas que dieron como resultado 15 *loci* útiles para el estudio de poblaciones, de los cuales solo 2 *loci* resultaron polimórficos al 95%, lo que indicó una baja variabilidad para la especie (Tabla 3). Además, no se detectaron diferencias genéticas (F_{ST} : 0,017) entre las

localidades estudiadas. Sin embargo, sí se observaron algunas diferencias a nivel morfológico como respuesta a la adaptación al medio, ya que están relacionadas con las características hidrológicas y ecológicas de las localidades estudiadas (Figura 3). La baja variabilidad genética observada que en una primera impresión y comparada con la variabilidad detectada en peces marinos resultó sorprendente, es similar a la variabilidad detectada para otras especies de crustáceos marinos. Dicho de otra manera, las gambas en general presentan poca variabilidad alozímica, lo que nos hizo pensar que de existir diferencias genéticas entre poblaciones no se observaban con esta metodología pero sí se podrían observar con otros marcadores genéticos más sensibles y variables. De este modo, dimos un paso adelante en la investigación y nos propusimos desarrollar otro tipo de marcadores genéticos que habían sido ensayados con éxito en peces marinos: los marcadores mitocondriales.

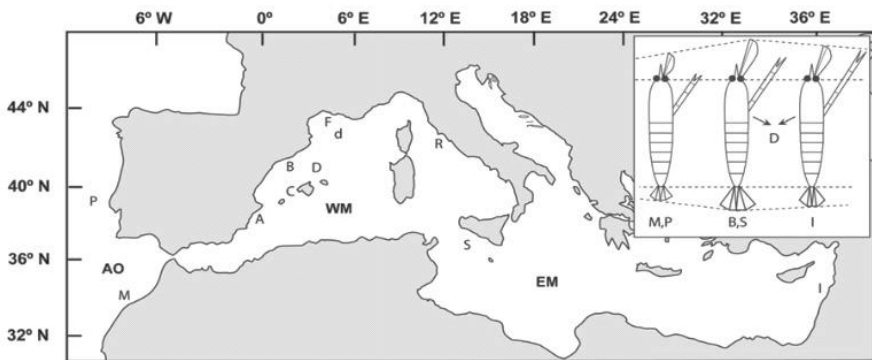


Figura 3. Mapa de distribución de las muestras mediterráneas de gamba roja analizadas por dos metodologías, las alozimas y la morfología de los individuos. AO: Océano Atlántico, WM: cuenca occidental, EM: cuenca oriental.

LOCALIDADES ESTUDIADAS

LOCUS alelos	P	A	B	C	D	F	d	R	S	I	M
<i>GPI*</i>											
N	30	30	30	30	30	30	30	24	46	53	55
*100	0,667	0,550	0,633	0,600	0,500	0,517	0,617	0,583	0,500	0,557	0,536
*90	0,333	0,433	0,367	0,400	0,500	0,483	0,350	0,417	0,500	0,415	0,464
*120		0,017					0,033			0,019	
*70										0,009	
<i>PGM*</i>											
N	30	30	30	30	28	29	30	24	46	50	55
*100	0,800	0,733	0,917	0,867	0,929	0,897	0,883	0,917	0,935	0,900	0,900
*95	0,050	0,133	0,017	0,050	0,036	0,086	0,017		0,022	0,020	0,045
*105	0,133	0,133	0,067	0,083	0,036	0,017	0,100	0,083	0,043	0,080	0,055
*80	0,017										

Tabla 3. Variabilidad genética detectada en los dos marcadores alozímicos polimórficos al 95%, los *loci* GPI (Glucosa 6-fosfato isomerasa) y PGM (Fosfoglucomutasa) en las 11 localidades analizadas. N: número de individuos analizados.

Análisis geográfico: ADN mitocondrial

En el siguiente estudio, nos planteamos conocer si la estructura poblacional de la gamba roja es única en toda su distribución mundial o sin embargo, existen diferentes unidades poblacionales con restringido flujo génico entre ellas y que podrían ser gestionadas por separado. La localización de las muestras analizadas se muestra en la Figura 4 y corresponden a los principales caladeros localizados en la cuenca occidental y oriental del Mar Mediterráneo, en aguas atlánticas adyacentes al Estrecho de Gibraltar y por último, el Canal de Mozambique en el Océano Índico. Dentro del Mar Mediterráneo existen tres barreras potenciales al flujo génico entre poblaciones de organismos marinos. Una es el frente oceanográfico conocido con el nombre de Frente Oceanográfico Almería-Orán que se extiende a lo largo de la línea imaginaria que une ambas ciudades. Un frente oceanográfico se forma cuando dos masas de agua de densidades diferentes se encuentran en un punto dado. Las otras dos potenciales

barreras son barreras geográficas. Una es el Estrecho de Gibraltar que separa las aguas atlánticas de las aguas mediterráneas y la segunda, es el Estrecho de Sicilia que separa las aguas de la cuenca occidental de la oriental.

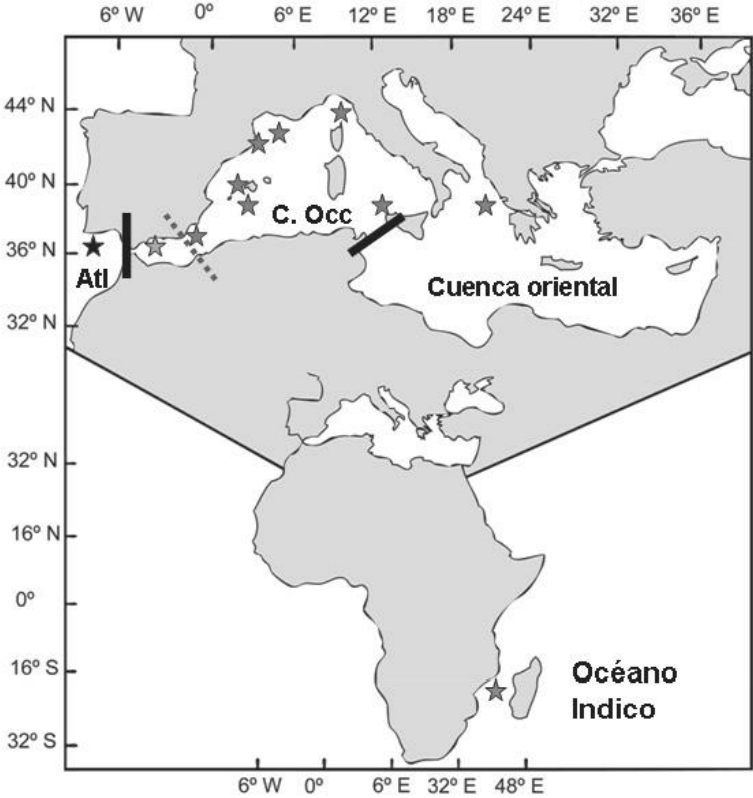


Figura 4. Distribución de las muestras analizadas (estrellas) con los genes mitocondriales 16S rDNA y COI. La línea de puntos simboliza el Frente Oceanográfico Almería-Orán. Las dos líneas continuas indican los Estrechos de Gibraltar y Sicilia respectivamente. Atl: Océano Atlántico, C.Occ: cuenca occidental.

Los resultados obtenidos revelaron que la variabilidad genética para la especie en los dos genes analizados es alta y similar a los niveles detectados en otros crustáceos marinos. El detalle de los datos obtenidos se muestra en la Tabla 4.

Región geográfica	Localidad	16S rDNA						COI					
		N	n	Nh	Np	<i>b</i>	π	n	Nh	Np	<i>b</i>	π	
Océano Atlántico	Faro, Portugal	38	35	6	6	0,67	0,0017	37	15	23	0,86	0,0062	
	Mar de Alborán	53	53	17	17	0,59	0,0016	53	12	13	0,46	0,0020	
	Almería	45	43	5	4	0,26	0,0005	43	9	14	0,38	0,0019	
	Sóller	48	46	7	7	0,28	0,0007	47	8	11	0,28	0,0012	
	Cabrera	40	33	6	6	0,28	0,0007	39	6	8	0,24	0,0009	
Cuenca occidental	Palamós	59	59	10	10	0,34	0,0007	59	13	18	0,40	0,0016	
	Golfo de León, Francia	51	46	9	8	0,39	0,0009	51	8	13	0,26	0,0014	
	Génova, Italia	44	37	6	5	0,55	0,0011	44	12	16	0,59	0,0039	
	Palermo, Italia	40	35	7	7	0,41	0,0010	37	5	8	0,34	0,0016	
Cuenca oriental	Mar Jónico, Grecia	40	39	5	4	0,59	0,0012	40	12	18	0,76	0,0058	
Océano Indico	Canal de Mozambique, Mozambique	48	46	16	13	0,61	0,0015	47	28	39	0,96	0,0070	
	Total	506	472	65	59	0,55	0,0013	497	92	75	0,57	0,0034	

Tabla 4. Variabilidad genética detectada en los genes mitocondriales 16S rDNA y COI respectivamente, para cada localidad y para el total de individuos analizados. N: número de individuos analizados, n: número de secuencias obtenidas, Nh: número de haplotipos, Np: número de sitios polimórficos, *b*: diversidad haplotípica, π : diversidad nucleotídica.

Ambos marcadores genéticos utilizados mostraron el mismo patrón de diferenciación geográfico, lo que indica una fuerte robustez de los resultados obtenidos. En la Figura 5 se observan los resultados obtenidos con el análisis bayesiano de los haplotipos. Se detectaron dos haplogrupos, 1 y 2 respectivamente, los cuales se observan en todas las localidades pero en diferente proporción. Así, las localidades de la cuenca occidental presentan una alta proporción del haplogrupo 1; en la cuenca oriental ambos haplogrupos están representados equitativamente; en la localidad atlántica el haplogrupo 2 es el más abundante al igual que en Mozambique que es aún más abundante.

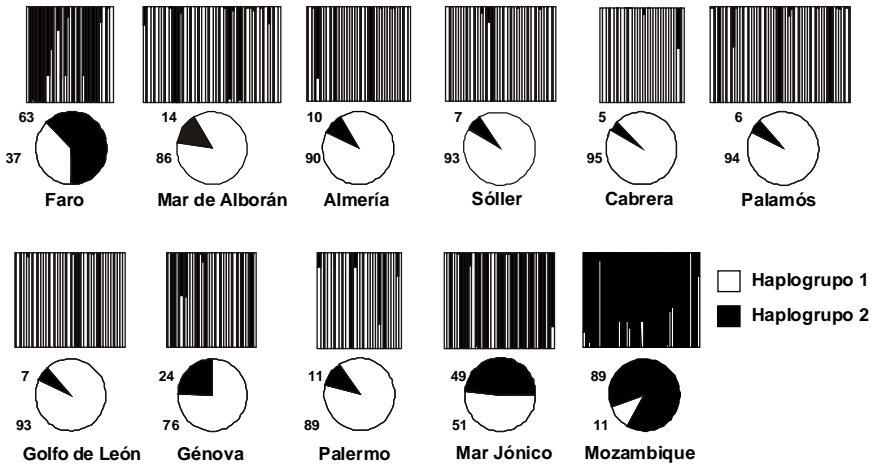


Figura 5. Análisis bayesiano de los haplotipos concatenados (16S rDNA y COI) de cada individuo y para el total de muestras analizadas. Las barras verticales simbolizan individuos. Cuanto más sea de color blanco o negro la barra, más probabilidad hay que el individuo pertenezca al haplogrupo 1 o 2, respectivamente.

Dentro del Mar Mediterráneo la diferenciación genética está asociada a las dos barreras geográficas más importantes, los estrechos de Gibraltar y de Sicilia. Por otro lado, el frente oceanográfico Almería-

Orán no constituye una barrera al flujo génico entre individuos, por lo que las localidades de la cuenca occidental del Mar Mediterráneo están bien conectadas entre sí. Así, se han identificado tres stocks genéticos que se corresponden a las aguas atlánticas adyacentes al estrecho de Gibraltar, la cuenca occidental y la cuenca oriental (Figura 6). Los tres stocks genéticos detectados justifican una gestión independiente de los mismos.

Por otro lado y como era de esperar, los individuos de Mozambique presentaron una divergencia genética significativa respecto a las muestras mediterráneas analizadas. Dada la gran distancia geográfica que separa ambos grupos de muestras, lo más probable es que estas diferencias observadas sean debidas a un aislamiento por distancia entre ambos grupos de poblaciones de gambas producido durante miles de años (Figura 6).

Este estudio realizado a gran escala geográfica y que abarca la totalidad de la distribución geográfica de *Aristeus antennatus*, representa la primera evidencia de estructuración genética en la gamba roja.

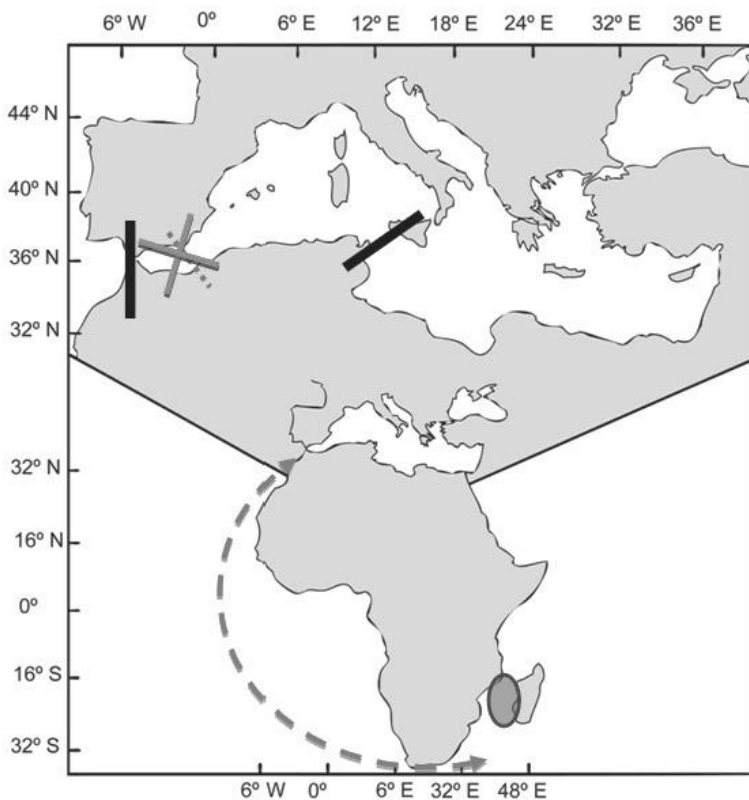


Figura 6. Representación esquemática de las conclusiones obtenidas en el análisis geográfico utilizando dos marcadores mitocondriales, el 16S rDNA y la COI.

Análisis batimétrico: ADN mitocondrial

Además de su distribución horizontal a lo largo del Mar Mediterráneo, la gamba roja tiene una distribución vertical a lo largo de la columna de agua que va desde los 100 metros de profundidad hasta los 2.800 metros. Por esta característica es la especie mediterránea con mayor distribución batimétrica y le confiere unas particularidades especiales desde el punto de vista biológico y

pesquero. Poco se conoce el rol que juegan en la dinámica poblacional los grupos de individuos de aguas más profundas en relación a los grupos más superficiales. Estos grupos de aguas profundas, al no ser explotados, se los conoce como stocks vírgenes. Con el fin de conocer las diferencias genéticas entre los stocks explotados y los stocks vírgenes en una misma localidad, se recolectaron muestras a 350, 700, 1.100, 1.500 metros (Figura 7). El marcador molecular utilizado fue el gen mitocondrial, 16S rDNA. En el análisis de red de haplotipos no se observó una agrupación en función de la profundidad a la que pertenecía el individuo (Figura 7). Así, los resultados obtenidos, indicaron una gran homogeneidad genética entre los stocks explotados y los stocks vírgenes, sin diferenciación genética entre las profundidades analizadas ($\Phi_{ST}=0,0044$; distancia genética de Tamura – Nei = 0,0007-0,0008). Por lo tanto, no existe aislamiento genético entre las profundidades, y como consecuencia, indican una conexión en sentido vertical entre los stocks explotados y vírgenes. Integrando los resultados genéticos con la pesca de la gamba roja, lo que se concluye es que el efecto selectivo de extracción de individuos que la pesca ejerce sobre los stocks más superficiales sería compensado por la llegada de individuos desde los stocks vírgenes actuando estos como fuente de individuos (Figura 8).

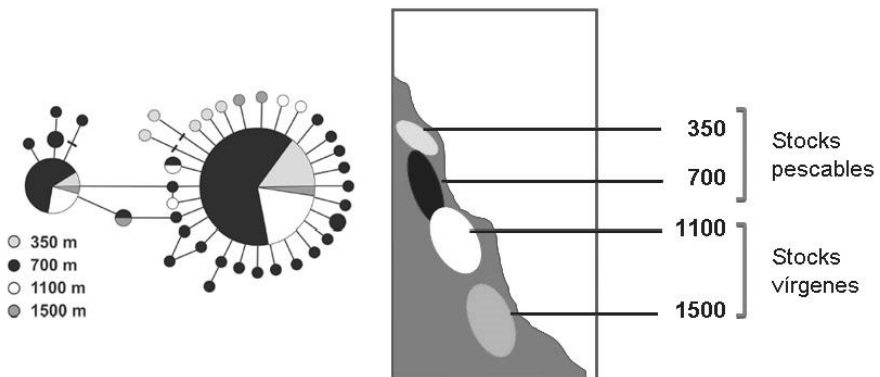


Figura 7. Esquema del muestreo realizado en una localidad para el estudio de la variabilidad genética en relación a la batimetría. Red de conexiones entre haplotipos detectados. Cada círculo representa un haplotipo y su tamaño es proporcional al número de individuos que lo presentan.

Profundidad	N	Nh	Np	<i>h</i>	π
350 m	45	7	8	0,289	0,0007
700 m	206	28	26	0,363	0,0008
1100 m	46	6	5	0,347	0,0007
1500 m	24	5	4	0,312	0,0007
Total	321	38	37	0,345	0,0008

Tabla 5: Variabilidad genética detectada en el gen 16S rDNA en relación a la batimetría para cada localidad y el total de individuos analizados. N: número de individuos analizados, n: número de secuencias obtenidas, Nh: número de haplotipos, Np: número de sitios polimórficos, *h*: diversidad haplotípica, π : diversidad nucleotídica,

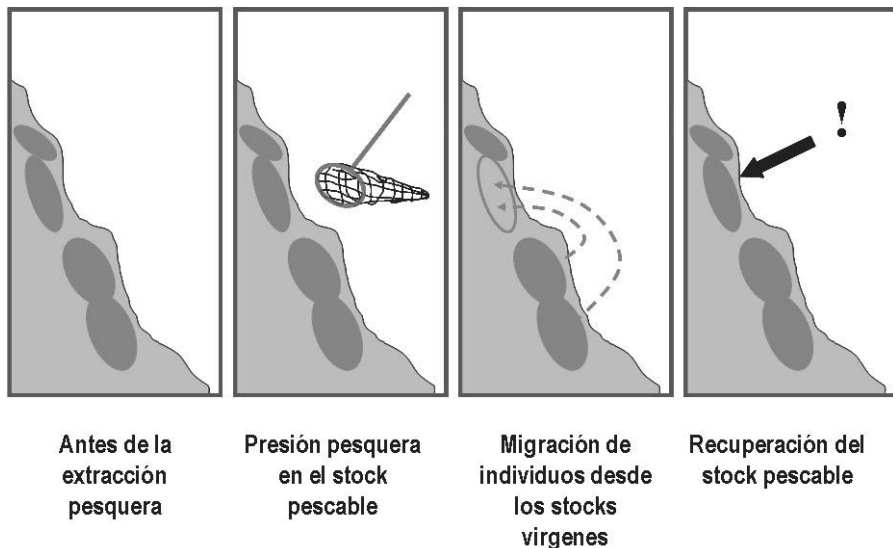


Figura 8. Esquema de la dinámica poblacional en base a los resultados del estudio batimétrico utilizando el marcador mitocondrial, 16S rDNA.

Análisis taxonómico: ADN mitocondrial y nuclear

Tres especies afines de gambas rojas, *Aristeus antennatus*, *Aristeus virilis* y *Aristaeomorpha foliacea* se estudiaron utilizando múltiples marcadores moleculares con el objetivo de conocer los patrones evolutivos y la relación taxonómica con base genética entre ellas. Los tres marcadores moleculares estudiados en *Aristeus antennatus* identificaron un único linaje a lo largo de su distribución mundial, lo que indica que se trata de una única especie biológica. Por otro lado, la estrecha relación genética detectada con *Aristeus virilis* es consistente con la clasificación biológica actual que las considera especies de un mismo género: *Aristeus*.

En la gamba roja también denominada gamba gigante o chorizo, *Aristaeomorpha foliacea* se identificaron tres linajes genéticos asociados a grandes regiones geográficas. Uno en el Mar Mediterráneo, otro en el canal de Mozambique y el tercero en el noroeste de Australia. El alto nivel de divergencia genética observada entre el linaje de Australia versus los otros dos linajes, es comparable al nivel de divergencia obtenido entre otras especies de gambas. En consecuencia, los individuos del linaje australiano corresponden a una especie no identificada morfológicamente y no detectada previamente, por lo tanto una especie nueva. El nombre que hemos propuesto para esta nueva especie es *A. rostridentata*. Cabe mencionar que este descubrimiento abre una interesante línea de investigación en esta gamba roja, que esperamos lleven a término a no muy largo plazo los investigadores australianos.

Implicaciones para la gestión de las pesquerías y la sostenibilidad del recurso

A pesar de que la explotación pesquera de la gamba roja comenzó en 1930, no tiene al día de hoy, un plan gestión pesquera ni de conservación a lo largo de toda su distribución geográfica. El principal problema biológico en la gestión integral de una pesquería es la identificación de unidades de gestión, denominadas stocks genéticos. Para identificar los stocks genéticos de la gamba roja es imprescindible conocer el grado de aislamiento genético o conectividad entre los stocks explotados. Debido a la elevada demanda y las fluctuaciones que durante los últimos años han presentado las capturas de esta especie, la cofradía de Palamós ha implantado una veda de pesca de 60 días al año (BOE, 2013) con tal de garantizar la sostenibilidad del recurso pesquero a largo termino. Esta medida, que tiene carácter preventivo es pionera en Cataluña y servirá de ejemplo a otras cofradías gironinas, catalanas y de otras costas para así favorecer que la mayoría de individuos lleguen a la medida reglamentaria. En la actualidad, la Generalitat de Cataluña planea poner en marcha un plan de gestión integral de la gamba roja en el litoral catalán, con la participación de todas las partes implicadas en su explotación. A la hora de redactar el plan de gestión integral se han de tener en cuenta aspectos fundamentales, como son los aspectos biológicos, económicos y sociológicos de la especie.

Inconvenientes

Los inconvenientes más destacables de la aplicación de técnicas genéticas en la investigación de organismos marinos se pueden reducir a dos argumentos principales: el coste económico del material de

laboratorio y la transmisión del mensaje a las administraciones responsables de la gestión de los recursos pesqueros.

El material y los aparatos que se utilizan en un laboratorio de genética tienen un alto coste económico, comparado con el coste de otras investigaciones biológicas como pueden ser los estudios de morfometría o los estudios de reproducción de la biología clásica. Los reactivos y productos para las reacciones de amplificación (PCR) y secuenciación de genes se han abaratado desde que se desarrollaron a finales de los años 80 en los Estados Unidos de América y el Reino Unido de Gran Bretaña, debido a que se extendieron rápidamente a laboratorios de todo el mundo aumentando así su demanda. Sin embargo, aún tienen un coste considerable que limita la obtención de financiación para avanzar más rápidamente en la obtención de nuevos conocimientos.

Que la administración a todos los niveles y por ende los gestores de los recursos pesqueros comprendan la importancia de los datos genéticos en la gestión de una pesquería es aún una asignatura pendiente, a pesar de que su importancia se demostró y se conoce dentro del ámbito científico desde los años 70. En este punto tenemos los genéticos de poblaciones, y en particular, los que trabajamos con organismos explotados los cuales hay que conservar para las futuras generaciones, que hacer una reflexión ya que es en parte nuestra responsabilidad hacer llegar a todos los estamentos involucrados los resultados obtenidos. Para nosotras, es tarea habitual difundir a modo de conferencias en reuniones nacionales e internacionales y también en las publicaciones científicas nuestros resultados a los colegas que trabajan como nosotras dentro del mundo científico y por consiguiente conocen los complejos conceptos de la genética de poblaciones y la genética de la conservación. No es tan

habitual difundir los resultados de nuestra investigación a nivel de la sociedad en general, quizás en parte porque no estamos formados para ello y con esta excusa, sumado a la falta de publicaciones de este tipo, escribimos poco a un nivel que lo entienda y comprenda cualquier lector. Teniendo presente la excepción de las secciones de ciencia de los grandes periódicos, podemos afirmar que tanto en España como en Cataluña, la denominada divulgación científica es lamentablemente escasa. Sin embargo, nuestro mayor compromiso con la sociedad es la transmisión de nuestros resultados a las administraciones locales, nacionales, estatales o europeas que gestionan los recursos pesqueros ya que son ellos los responsables últimos de la sostenibilidad a mediano y largo plazo de la explotación. Y en consecuencia, de la conservación del recurso en sí mismo pero también del tejido socio económico que participa en todo el proceso desde que, en este caso la gamba roja, sale del agua hasta que llega al plato.

Consideraciones finales

Los conocimientos que se han presentado previamente son en realidad la punta de lanza de una línea de investigación sobre la genética de la gamba roja que esperamos poder continuar a pesar de los vaivenes económicos que afectan actualmente a la investigación científica en nuestro país. En el momento en que estamos escribiendo este *Quadern Blau*, estamos trabajando en otro objetivo científico, el desarrollo de nuevos marcadores moleculares apropiados para la identificación de poblaciones cercanas como son los diferentes caladeros de la costa catalana. Un avance de esta investigación se puede consultar en el resumen divulgativo de la 7ª edición de la Beca Cooperativa La Equitativa que tuvimos el honor de disfrutar para continuar con nuestra línea de investigación, y que está disponible

para todos los interesados en el *Servei d'Arxiu Municipal* del Ayuntamiento de Palamós y que se puede descargar desde su página web.

Aunque dedicamos mucha parte de nuestro tiempo a investigar en el laboratorio y a analizar estadísticamente los datos obtenidos, sin embargo, los resultados científicos concretos tardan más de lo que a veces anhelamos. Así que los mismos serán otro capítulo de la historia de la genética de la gamba roja, que esperamos y deseamos contarles en un próximo número de la serie *Quadern Blau*.

Agradecimientos

A lo largo de todos los años en los cuales hemos trabajado con la gamba roja muchas personas ya sean colegas del ámbito universitario como del ámbito de la investigación marina, estudiantes de Biología de la Universidad de Girona, de la Universidad de Pisa, Italia y estudiantes de Institutos de Formación Profesional de Girona como así también personas vinculadas al ambiente pesquero han contribuido de alguna forma a la obtención de los conocimientos que aquí se presentan. A todos ellos nuestro agradecimiento con todo nuestro afecto.

Bibliografía

“Orden AAA/923/2013 de 16 de Mayo Orden AAA/923/2013, de 16 de mayo, por la que se regula la pesca de gamba rosada (*Aristeus antennatus*) con arte de arrastre de fondo en determinadas zonas marítimas próximas a Palamós”. En *Boletín Oficial del Estado*, 2013. núm. 126, p. 40016.

“*Aristeus antennatus*” En *Species fact sheet*. [Recuso electrónico] Roma: FAO, 2012. Disponible en <http://goo.gl/FFJMBU>

Bas C *et al.* “Differentiation of three populations of *Aristeus antennatus* (Risso 1816) using enzymatic and morphometric analysis.” *Première Conférence Européenne sur les Crustacés*. Paris : Editions du Muséum national d'Histoire Naturelle, 1993.

Benzie, J. Population genetic structure in penaeid prawns. *Aquaculture Research*, 2000, vol. 31, núm. 1, pp. 95-119.

De Grave, S; Fransen, C.H.J.M. “Carideorum Catalogus: the recent species of the dendrobranchiate, stenopodidean, procarididean and caridean shrimps (Crustacea: Decapoda).” *Zoologische Mededelingen*, 2011, vol. 85, p. 195

Fernández, M.V. Pylogeographical analyses of two aristeid shrimps, *Aristeus antennatus* and *Aristaeomorpha foliacea* (Crustacea, Aristeidae), with implications for resource conservation. [Tesi doctoral]. Girona: Universitat de Girona. Laboratorio de Ictiología Genética, 2012

Fernández M.V. *et al.* “Genetic structure in the blue and red shrimp *Aristeus antennatus* and the role played by hydrographical and oceanographical barriers.” *Marine Ecology Progress Series*, 2012, vol. 421, pp. 163-171.

Fernández M.V. “Molecular phylogeography of *Aristeus antennatus* and *Aristaeomorpha foliacea* (Aristeidae: Decapoda) inferred by mitochondrial and nuclear genes.” *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, núm. 3.

Fischer, W; Bianchini, G.; Scott, W.G. “Eastern Central Atlantic, fishing areas 34, 47 (in part). Shrimps and prawns, true crabs, stomatopods, bivalves, gastropods, cephalopods and sea turtles.” En *FAO species identification sheets for fishery purposes*. Vol. 4. Ottawa: Canada Funds-in-Trust. Rome: FAO, 1981.

Informe de la Consulta de expertos sobre utilización y conservación de recursos genéticos acuáticos. Roma: FAO, 1994. Informe de Pesca N° 491.

Maltagliati, F. *et al.* “Dati filogeografici preliminari su *Aristeus antennatus* (Crustacea, Aristeidae) nel Mediterraneo occidentale.” *Ecologia, Limnologia e Oceanografia. Quale futuro per l'ambiente? Atti del Congresso congiunto AIOL/SItE (Ancona, 2007)*. Ancona: Società Italiana di Ecologia. Associazione Italiana Oceanografia e Limnologia, 2007, p. 195-200

Patellani, R. *Analisi della variabilità genetica in Aristeus antennatus (Crustacea, Aristeidae) nel Mediterraneo occidentale mediante l'utilizzo di marcatori molecolari*. [Tesis de laurea specialistica]. Pisa: Università di Pisa, 2007.

Pla, C.; Roldán, M.I.; García-Marín, J.L. “Biochemical genetics of the pink prawn, *Aristeus antennatus* Risso, in the Western Mediterranean.” En Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée. *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions*, 1995, vol. 34: 39

Roldán; M.I. *et al.* Analysis of genetic structure of the red shrimp *Aristeus antennatus* from the Western Mediterranean employing two mitochondrial regions. *Genetica*, 2009, vol. 136, núm. 1, p.1-4.

Roldán, M. I. “L’importanza della genetica della conservazione nella pesca profonda in Mediterraneo.” *XX Rassegna del Mare* (Roma – Ostia, 2009). p.56.

Roldán, M.I. “Conservation genetics of virgin stocks of the deep-sea shrimp *Aristeus antennatus*.” *MedSea*, 2009, vol. 4, p. 50.

Sardà F. *et al.* “Enzymatic and morphometric analyses in mediterranean populations of the rose shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816).” *Journal of experimental marine biology and ecology*, 1998, vol. 221, núm. 1, p. 131-144.

Sardà F *et al.* “Influence of the genetic structure of the red shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) on the sustainability of a deep-sea population along a depth gradient in the Western Mediterranean.” *Scientia Marina*, 2010, vol. 74, p. 569-575.

Sardà F. *et al.* “Relationships between environment and the occurrence of the deep-water rose shrimp *Aristeus antennatus* (Risso,

1816) in the Blanes submarine canyon (NW Mediterranean).”
Progress in Oceanography, 2009, vol. 82, p. 227-238.

Tudela S. *et al.* Influence of submarine canyons on the distribution of the deep-water shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) in the NW Mediterranean. *Crustaceana*, 2003, vol. 76, núm. 2, p. 217-225.

Turco A. *Analisi filogeografica del gambero viola *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Crustacea, Aristeidae) mediante due marcatori mitocondriali.* [Tesis de laurea specialistica]. Pisa: Università di Pisa, 2009.