

**ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES DEL
CARACOL *Neritina virginea* (GASTROPODA: NERITIDAE) EN EL DELTA DEL
RIO ATRATO (GOLFO DE URABÁ)**

DIANA MARCELA CORNEJO SÁNCHEZ

**UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

Medellín

2013

**ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES DEL
CARACOL *Neritina virginea* (GASTROPODA: NERITIDAE) EN EL DELTA DEL
RIO ATRATO (GOLFO DE URABÁ)**

DIANA MARCELA CORNEJO SÁNCHEZ

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de
Bióloga**

Asesor

Juan Felipe Blanco Libreros

Biólogo marino, PhD

Co-asesor

Winston Rojas Montoya

Biólogo, PhD

**UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
Medellín
2013**

NOTA DE APROBACIÓN

Firma jurado

Firma jurado

A mi mamá por su constante apoyo y amor incondicional
A mi padre por su apoyo y por inculcarme el valor de la ciencia
A mi abuelito Ernesto, que se estaría orgulloso
A Juan Miguel mi alegría y apoyo absoluto
A los profesores, amigos y compañeros

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento muy especial a los profesores Juan Felipe Blanco y Winston Rojas, asesores de este trabajo, por su apoyo, colaboración y paciencia durante la realización de este proyecto. Además por ser parte de mi proceso de formación y guiarme por el mejor camino hacia el aprendizaje.

Al profesor Gabriel Bedoya Berrío, coordinador del grupo de genética molecular (GENMOL) por su especial contribución en el préstamo del espacio físico, la solidaridad y acompañamiento durante este proceso.

Al Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) por la financiación de este proyecto.

A mi gran familia, especialmente a mis padres por brindarme todo su apoyo moral y económico durante mi formación académica.

A los integrantes de los grupos de Genética Molecular (GENMOL) y Ecología Lógica: Islas, Costas y Estuarios (ELICE) por su amistad y sus aportes que me hicieron crecer como persona y profesional.

A Juan Miguel por el acompañamiento moral y la ternura durante estos últimos cuatro años.

A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron con éste proceso de formación y me incentivaron a mejorar cada día.

CONTENIDO

	pág.
LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE ANEXOS.....	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
1. DISPERSIÓN LARVAL Y CONECTIVIDAD POBLACIONAL.....	16
2. MARCO GENÉTICO: MOLUSCOS PLANCTOTRÓFICOS	19
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
4. OBJETIVOS.....	23
4.1 GENERAL.....	23
4.2 ESPECÍFICOS	23
5. HIPÓTESIS	23
6. ÁREA DE ESTUDIO	24
6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	24
6.2 ASPECTOS GEOMORFOLÓGICOS: EL SECTOR OCCIDENTAL DEL GOLFO DE URABÁ.....	25
6.2.1 <i>Unidades de origen estructural</i>	26
6.2.2 <i>Unidades de origen marino</i>	26
6.2.3 <i>Unidades de origen fluvial</i>	27
6.3 EL AMBIENTE DELTAICO	29
6.3.1 <i>Elementos del delta</i>	30
6.4 ASPECTOS CLIMATOLÓGICOS	32
6.4.1 <i>Temperatura del aire</i>	32
6.4.2 <i>Vientos</i>	32
6.5 ASPECTOS HIDROLÓGICOS	33
6.5.1 <i>Precipitación</i>	33
6.5.2 <i>Caudales de los principales tributarios</i>	33
6.6 ASPECTOS OCEANOGRÁFICOS: EL GOLFO DE URABÁ ES UN GRAN ESTUARIO	34
6.6.1 <i>Características fisicoquímicas del agua</i>	34
6.6.2 <i>La circulación en el golfo de Urabá</i>	37
6.6.3 <i>El oleaje</i>	39
6.6.4 <i>Las mareas</i>	40
6.6.5 <i>Modelos de dispersión de sedimentos</i>	41

7.	ORGANISMO DE ESTUDIO.....	42
7.1	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	42
7.2	MORFOLOGÍA EXTERNA Y REPRODUCTIVA.....	43
7.3	REPRODUCCIÓN Y CICLO DE VIDA.....	44
8.	METODOLOGÍA	46
8.1	MÉTODOS DE CAMPO: MUESTREO	46
8.2	MÉTODOS DE LABORATORIO	49
8.2.1	<i>Disección.....</i>	49
8.2.2	<i>Extracción de ADN.....</i>	49
8.2.3	<i>Elección de ADNmt como marcador.....</i>	50
8.2.4	<i>Amplificación del gen Citocromo Oxidasa I (COI).....</i>	51
8.2.5	<i>Secuenciación.....</i>	52
8.3	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	52
8.3.1	<i>Edición de secuencias.....</i>	52
8.3.2	<i>Estimativos de diversidad y estructura poblacional</i>	52
8.3.3	<i>Aislamiento por distancia.....</i>	53
8.3.4	<i>Análisis estadístico.....</i>	53
9.	RESULTADOS	54
9.1	DIVERSIDAD GENÉTICA Y DIFERENCIACIÓN ENTRE GRUPOS	54
9.1.1	<i>Índices de diversidad.....</i>	54
9.1.2	<i>Diferenciación entre grupos.....</i>	60
9.1.3	<i>Red haplotípica.....</i>	62
9.2	AISLAMIENTO POR DISTANCIA.....	64
9.3	AMOVA	64
10.	DISCUSIÓN	67
11.	CONCLUSIONES	74
12.	RECOMENDACIONES.....	75
	BIBLIOGRAFÍA	76

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Localización, parámetros fisicoquímicos y tamaño de la muestra para cada una de las bahías (se indican varias estaciones o poblaciones dentro de cada bahía). Modificado de Ortiz y Blanco (2009).	48
Tabla 2. Estimadores utilizados para evaluar la composición y estructura genética de <i>Neritina virginea</i>	53
Tabla 3. Índices de diversidad genética.	57
Tabla 4. Diferenciación entre grupos incluyendo secuencias divergentes.	61
Tabla 5. Diferenciación entre grupos excluyendo secuencias divergentes.	62
Tabla 6. Análisis molecular de varianza tomando como grupos las bahías del norte (Yerbasal, El Roto y Candelaria) versus las del sur (Cocogrande, Burrera, La Paila y Marirrio).....	65
Tabla 7. Índices de fijación y valores de significancia.	65
Tabla 8. Análisis molecular de varianza tomando como grupos las bahías abiertas (Yerbasal, El Roto, Candelaria y Marirrio) versus las cerradas (Cocogrande, Burrera y La Paila).	66
Tabla 9. Índices de fijación y valores de significancia.	66

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Mapa del golfo de Urabá mostrando los puntos de muestreo.....	25
Figura 2. Morfología y estados de la línea de costa del delta del río Atrato. Tomada de Nieto-Oliveros, 2004.	31
Figura 3. Esquematación de la circulación de las corrientes en el golfo de Urabá. A) Época seca B) época húmeda. Modificado de Chevillot <i>et al.</i> (1993)	38
Figura 4. Circulación de las aguas superficiales en el golfo de Urabá. Izquierda: época húmeda, derecha: época seca. Tomado de Roldán <i>et al.</i> (2008).....	39
Figura 5. Distribución geográfica de <i>Neritina virginea</i>	43
Figura 6. Morfología reproductiva de <i>Neritina virginea</i> . A) Vista dorsal del pene. B) Espermatóforo. C) y D) Opérculo (vistas interna y externa respectivamente). Tomado y modificado de Haynes (2005).	44
Figura 7. Ubicación de los puntos de muestreo. Modificado de Ortiz y Blanco, (2009).	47
Figura 8. Red haplotípica considerado secuencias de Urabá, Puerto Rico y Panamá.	56
Figura 9. Distribución de diferencias pareadas incluyendo las secuencias divergentes.	58
Figura 10. Distribución de frecuencias alélicas (sitios segregantes) incluyendo las secuencias divergentes.	59
Figura 11. Distribución de diferencias pareadas excluyendo las secuencias divergentes.	59
Figura 12. Distribución de frecuencias alélicas (sitios segregantes) excluyendo las secuencias divergentes.	60
Figura 13. Red haplotípica incluyendo las secuencias polimórficas.....	63
Figura 14. Test de Mantel. Distancia geográfica vs. distancia genética de poblaciones de <i>N. virginea</i> del delta del río Atrato.....	64

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Estimativos F_{st} y test exacto de diferenciación poblacional	85
Anexo B. Redes haplotípicas de las distintas localidades	87
Anexo C. Definición de haplotipos (incluyendo secuencias divergentes).....	88
Anexo D. Definición de haplotipos (excluyendo secuencias divergentes).....	89
Anexo E. Frecuencias relativas de haplotipos (incluyendo secuencias divergentes)	90
Anexo F. Frecuencias relativas de haplotipos (excluyendo secuencias divergentes)	91

RESUMEN

El golfo de Urabá es un sistema estuarino complejo y dinámico en donde interactúan variables ecológicas, hidrológicas, oceanográficas y climatológicas, que influyen en la diversidad, composición y estructuración genética de las poblaciones que allí habitan. Por este motivo, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la diversidad, composición y estructura genética de poblaciones de *Neritina virginea* situadas en el delta del río Atrato. Para lograr este objetivo, se amplificó una región del gen mitocondrial *COI* (390pb) en 173 individuos recolectados. Las secuencias fueron analizadas, editadas y alineadas, para luego estimar los índices de diversidad moleculares (N_h , h , π , S , k), la distribución de disparidad, el espectro de frecuencias alélicas, la red haplotípica y valorar la diferenciación poblacional basada en estimadores F_{st} . El aislamiento por distancia se calculó utilizando una prueba de Mantel y para evaluar la estructuración genética por jerarquías se usó un AMOVA. La diversidad haplotípica fue intermedia (0.51) y el resto de estimadores fueron bajos ($\pi=0.00415$, $S=45$, $k=1.173$). Las gráficas de distribución de disparidad y el espectro de frecuencias alélicas fueron típicas de una expansión poblacional. Los índices F_{st} no mostraron estructuración genética poblacional significativa, igual que el AMOVA. Tampoco se encontró aislamiento por distancia entre las poblaciones. Cabe resaltar el hallazgo de dos secuencias originarias de Panamá y Puerto Rico dentro del Golfo, situación que puede estar indicando algún evento de colonización desde estas áreas, mediado por un evento de corrientes oceánicas extremas. Sin embargo, se cree que estas poblaciones conservan algún grado de aislamiento dada la baja frecuencia de las secuencias encontradas. En conclusión, *Neritina virginea* del golfo de Urabá se comporta como una población con alto flujo génico, que probablemente ha sufrido una expansión poblacional reciente y que se encuentra parcialmente aislada de otras poblaciones del Caribe.

Palabras clave: *Neritina virginea*, anfidromía, estructura genética, dispersión, ADNmt, golfo de Urabá, Caribe colombiano.

ABSTRACT

The Urabá gulf is a complex and dynamic estuarine system, where ecologic, hydrologic, oceanic and climatologic variables interact, influencing genetic diversity, composition and structure of populations. Therefore, the aim of this study was to evaluate the genetic diversity, composition and structure of *Neritina virginea* populations. To accomplish this aim, a region of the COI (390pb) gene was amplified in 173 individuals. The sequences were analyzed, edited and aligned in order to estimate molecular diversity indexes (N_h , h , π , S , k), to obtain mismatch and allelic frequencies distributions and to illustrate haplotypic networks. Genetic structuring of populations was assessed using F_{st} estimates. Isolation by distance was calculated using a Mantel test and hierarchical structuring of populations was proved with an AMOVA. Haplotypic diversity was intermediate (0.51) whereas the other estimates were very low ($\pi=0.00415$, $S=45$, $k=1.173$). Mismatch and allelic frequencies distribution showed a clear pattern of population expansion. F_{st} indexes showed no significant genetic structure of populations. Accordingly, there was no differentiation of populations in diverse hierarchical levels. No isolation by distance was observed between populations. It is worth to highlight the presence of two sequences from Panamá and Puerto Rico within the Urabá Gulf. In fact, this may be indicating some sort of colonization from these areas mediated by extreme oceanic currents. Nevertheless, it is believed that these populations still retain some degree of isolation given the low frequency of the sequences. Finally, *Neritina virginea* species behave as one population with high levels of gene flow that has undergone a recent expansion and is partially isolated from other Caribbean populations.

Key words: *Neritina virginea*, amphidromy, genetic structure, dispersal, mtDNA, Urabá Gulf, Colombian Caribbean.

INTRODUCCIÓN

El golfo de Urabá, ubicado al noreste de Colombia, es un gran estuario con dinámicas hidrológicas y ecosistémicas complejas. En el aspecto hidrológico, son numerosos los estudios que se han realizado con el objetivo de conocer los patrones de circulación de las aguas oceánicas y continentales, entender cómo se dispersan los sedimentos y las causas de la erosión litoral (Roldán et al., 2008; Molina et al., 1992; Montoya y Toro, 2006; Montoya et al., 2008; Correa y Vernet, 2004; Alvarez y Bernal, 2007; Bernal et al., 2005 a)

En la parte ecosistémica, estudios recientes han logrado caracterizar biológicamente algunos componentes del entorno y evidenciar las relaciones existentes entre estos. En la expedición científica realizada al Golfo durante el año 2009 (Blanco et al., 2011), se demostró que la flora predominante en las zonas costeras son los manglares y *Rhizophora mangle* la especie dominante (80%). Además se hizo evidente, el estado de degradación de este ecosistema, situación que es preocupante debido al alto índice de intervención antrópica en la región, que incluye actividades como la deforestación, el cambio de uso del suelo, la sobre-explotación de recursos y la reclamación de tierras (Uribe-Pérez y Urrego-Giraldo, 2009; Arroyave-Rincón et al., 2012).

Los manglares son ecosistemas estratégicos y su importancia ha sido reconocida y documentada ampliamente alrededor del mundo debido a la gran cantidad de bienes y servicios ambientales que proveen (Ellison, 2008; Farnsworth y Ellison, 1997). Algunos de los servicios incluyen: el procesamiento de la materia orgánica y los nutrientes, la protección contra las inundaciones y el control de los sedimentos. Adicionalmente los manglares sirven como fuente y sumidero de nutrientes y sedimentos, exportan energía que soporta ecosistemas marinos, protegen a las comunidades costeras de los daños causados por los desastres naturales y por la erosión costera y son el hábitat y refugio de numerosas especies

de peces, crustáceos, algas y moluscos. Esto último, corroborado por Ortiz y Blanco (2009) en un estudio que consideró la fauna de moluscos asociados a las raíces de manglar.

Investigaciones posteriores se han concentrado en los efectos de la intervención antrópica (deforestación y cambios de cobertura del manglar) en las poblaciones de gasterópodos (específicamente *Neritina virginea* y *Melampus coffeus*), destacando las consecuencias negativas que estos acarrearán (Castaño, 2012; Amortegui, 2011).

La fragmentación del ecosistema bien sea por intervención antrópica o por las discontinuidades naturales en la distribución del manglar (Duke et al., 1998) produce cambios visibles en la genética poblacional de muchas de las especies de fauna y flora que allí habitan, algunos de estos incluyen: 1) la creación de poblaciones aisladas, 2) la disminución del tamaño efectivo de las mismas y 3) la reducción del flujo génico entre ellas. Todo esto, conlleva a un aumento de la divergencia genética y potencialmente a una pérdida de la diversidad genética. Por otra parte, es posible que se incremente la deriva genética debido al pequeño tamaño efectivo de las poblaciones. En conjunto estos factores pueden afectar negativamente la viabilidad y adaptabilidad de las especies. No obstante, para determinar si el efecto de la fragmentación es mayor que el del flujo génico entre poblaciones, hay que tener en cuenta la capacidad de dispersión de los organismos, el tamaño poblacional en cada fragmento y la distancia geográfica entre las poblaciones (Barret y Kohn, 1991; Galindo et al., 2010; Parrent et al., 2004). Por lo anterior, es importante estudiar la genética poblacional como una herramienta no sólo para los estudios de la ecología poblacional, sino también para la biología de la conservación.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad, composición y estructura genética de poblaciones de *Neritina virginea*, un molusco que se

encuentra asociado al ecosistema de manglar y está ampliamente distribuido a lo largo del delta del río Atrato.

Es importante resaltar que esta investigación es la primera de este tipo que se realiza en el golfo de Urabá. Además este estudio hace una contribución importante al conocimiento actual de la genética de una especie anfídroma ampliamente distribuida por todo el Caribe y aporta a la comprensión de la dinámica oceanográfica de la región. Por otra parte, crea las bases para un mejor entendimiento de los niveles de conectividad marina en el Golfo que puedan ser extrapolados a otros organismos con ciclos de vida similares o con estados acuáticos de dispersión. Por último, da herramientas a las entidades públicas y privadas para la creación de planes y programas de investigación dirigidos al aprovechamiento sostenible y a la conservación del entorno.

1. DISPERSIÓN LARVAL Y CONECTIVIDAD POBLACIONAL

Desde hace más de 40 años, Scheltema (1971) propuso que las larvas velígeras de algunas familias de gasterópodos, entre estas la familia Neritidae, tienen la capacidad de migrar grandes distancias en el océano. Él las llamó larvas teleplánicas porque: (1) se originan en bancos de agua continentales, (2) son encontradas en mar abierto, (3) tienen desarrollo pelágico de larga duración y (4) sirven como medio de dispersión en largas distancias. Este autor planteó que las corrientes oceánicas del Atlántico y la larga duración del estado larval, eran los factores responsables de la enorme dispersión. Sin embargo, hizo evidentes las restricciones a la migración impuestas por la temperatura, la mortalidad y por los periodos de retraso del desarrollo propios de cada especie (Scheltema, 1971).

Además, Scheltema (1971) formuló un modelo probabilístico en el que el éxito en la dispersión larval depende de dos eventos. El primero, es la probabilidad de dispersión “ p ” que está dada por el coeficiente de deriva o la probabilidad de que la larva entre y permanezca dentro de una corriente que la transporte (p_d), este es “constante” y por el coeficiente de supervivencia o probabilidad de que la larva sobreviva al asentamiento (p_s), estimada como $p_s = 2/t_f$, donde t_f es la fecundidad o el número de huevos puestos por hembra, de aquí $p = p_d p_s$ o $p = p_d \frac{2}{t_f}$. El segundo es la frecuencia de dispersión “ d ” que depende de la probabilidad de dispersión (p) y del número de larvas producidas por la población parental (t), así pues $d = pt$. Sin embargo, t es función del tamaño poblacional (t_p) y del número de huevos producidos por hembra (t_f), para una especie dioica el número de larvas producidas será $t_p/2t_f$. Entonces $d = [p_d * 2/t_f][t_p/2 * t_f] = p_d t_p$, en últimas el éxito de la dispersión depende del coeficiente de deriva que puede ser considerado constante y del tamaño poblacional de la población parental.

Posteriormente, Okubo (1980) postuló un modelo de dispersión que él denominó difusión turbulenta o biodifusión, basado en la tendencia que tiene un grupo de “partículas” inicialmente concentradas en un punto a dispersarse en el tiempo,

ocupando gradualmente un área más grande alrededor del punto inicial. Este autor consideró aspectos cruciales en la dispersión de organismos marinos como por ejemplo las características del flujo turbulento, predominante en ambientes oceánicos. Sin embargo, mencionó que existen otras fuerzas que actúan directamente sobre los organismos y afectan la biodifusión, entre las que se encuentran: el efecto del ambiente, la atracción o repulsión entre individuos, las presiones poblacionales y el comportamiento individual.

En el mar, las corrientes y la turbulencia son los factores responsables del transporte y dispersión de larvas, las cuales en etapas tempranas del desarrollo son fácilmente llevadas por el agua, pero en etapas tardías pueden tener su propia movilidad vertical y horizontal. Algunos estudios conducidos en estuarios utilizando trazadores han sugerido que las larvas no se difunden tan rápido y por el contrario tienden a asentarse en el fondo, este comportamiento evita que sean mezcladas por el agua. Por tal motivo Okubo (1980) propone evaluar la distribución vertical de las larvas para conocer su dispersión horizontal, debido a su planteamiento que indica que el efecto de la cizalladura (*Shear*) en la vertical es responsable de la dispersión longitudinal.

Desde entonces, este tema ha continuado siendo sujeto de profundo debate dado que la dispersión de las larvas juega un papel fundamental en la conectividad y estructuración de las poblaciones y tiene muchas implicaciones ecológicas y evolutivas. Recientemente, varios autores han coincidido en que a mayor duración de la larva pelágica, mayor será su habilidad para dispersarse y menor su estructuración genética poblacional (revisado por Bohonak, 1999) . En contraste, otros autores sugieren que factores tales como el comportamiento larval y los procesos oceánicos a meso-escala pueden favorecer la retención larval o auto-reclutamiento, lo que promueve la diferenciación genética entre poblaciones cercanas (Weersing y Toonen, 2009).

Por otra parte, los métodos de rastreo de larvas para medir la conectividad poblacional son indirectos y representan un desafío. Generalmente, la conectividad entre poblaciones de especies marinas, estuarinas o costeras se ha determinado mediante la extensión espacial de la dispersión larval, la cual se infiere a partir del tiempo de duración de la larva pelágica (*PLD*), la modelación del movimiento pasivo de partículas por acción de las corrientes oceánicas (advección o difusión), el marcaje de otolitos para especies con huevos bénticos y el análisis de la variación de las frecuencias alélicas en genes nucleares y mitocondriales (Cowen et al., 2007; Thorrold et al., 2001). No obstante, cada una de estas técnicas presenta limitaciones. En primer lugar, si bien en algunos casos la duración de la larva pelágica puede estar positivamente relacionada con la capacidad de dispersión, existen factores geomorfológicos, físicos, oceanográficos y comportamentales que pueden actuar como barreras a la dispersión y promover el auto-reclutamiento (Valles-Jimenez et al., 2005). Segundo, aunque la aproximación oceanográfica es tal vez uno de los métodos preferidos para estimar conectividad por medio de la dispersión y migración larval, ésta técnica presenta innumerables inconvenientes ya que no tiene en cuenta: 1) patrones de corrientes oceánicas extremas (de gran magnitud y baja frecuencia), 2) la variabilidad en el éxito de reclutamiento y 3) el comportamiento que presentan algunas larvas en la columna de agua (Sale, 2006). Tercero, las técnicas de marcado tienen restricciones por la alta mortalidad de las larvas en el plancton y la gran dilución de estas en el océano. Por último, las técnicas moleculares integradas con herramientas estadísticas y modelamiento numérico (Scheltema, 1971; Okubo, 1980) permiten entender mejor los procesos de dispersión, pero la genética de poblaciones se basa en la suposición de que las poblaciones estudiadas se encuentran en equilibrio mutación-deriva genética, la cual no siempre se cumple y puede sesgar los resultados (Hedgecock *et al.*, 2007).

2. MARCO GENÉTICO: MOLUSCOS PLANCTOTRÓFICOS

En las especies, la conectividad juega un papel fundamental en el grado de flujo génico entre poblaciones y es por lo tanto un factor que influye en la dinámica local, de metapoblaciones y de comunidades, en la diversidad genética y en la resistencia que presentan las especies a los cambios ambientales (Cowen *et al.*, 2007). Actualmente, las técnicas moleculares son las más utilizadas para obtener estimativos del grado de flujo génico y de la estructuración poblacional, sin embargo este tipo de estudios son escasos en nerítidos anfídromos a nivel mundial y no se han llevado a cabo en Colombia, situación que se evidencia por los pocos reportes genéticos en las bases de datos públicas.

Específicamente para *N. virginea*, se han conducido dos trabajos que evalúan su estructura genética poblacional en diferentes escalas geográficas. El primero de ellos, realizado por Cook *et al.* (2009) usando secuencias de ADNmt que codifican para la subunidad 1 de la citocromo oxidasa (COI), mostró que existe un alto flujo génico y baja estructuración poblacional a la escala de isla en Puerto Rico para *N. virginea* (entre 11 especies anfídromas estudiadas); en 44 individuos de *N. virginea*, para una región de 354 pb, se encontraron 34 sitios polimórficos, 24 haplotipos y una alta diversidad haplotípica (0.910 ± 0.030) y nucleotídica (0.010 ± 0.006), comparada con la encontrada en otras especies anfídromas. Estos autores indicaron que las bajas tasas de auto-reclutamiento y la gran dispersión marina de las larvas de estos organismos son determinantes de la estructura poblacional en la isla.

El segundo estudio, realizado por Page *et al.* (2012) empleando el mismo marcador, demostró que en un área geográfica de 2000 Km (desde Puerto Rico hasta Panamá) no hay estructuración genética de las poblaciones de *N. virginea*, es decir, las poblaciones entre islas del Caribe presentan alto flujo génico. Sin embargo, estos autores enfatizan en la necesidad de interpretar cuidadosamente estos resultados ya que el marcador (ADNmt) utilizado en este análisis puede no

ser de utilidad cuando se pretenden detectar patrones geográficos a escalas muy finas.

De igual forma, otros autores que han investigado la estructura genética de la fauna anfídroma (moluscos, peces y camarones) del Pacífico y del Atlántico empleando diferentes escalas geográficas y marcadores (ADNmt, microsatelites y aloenzimas), concuerdan en que existe un alto flujo génico entre las poblaciones de estos organismos probablemente debido a la larga duración de la larva planctotrófica (gasterópodos: Hodges y Allendorf, 1998; Kyle y Boulding, 2000; Myers *et al.*, 2000; Lee y Boulding, 2009; Crandall *et al.*, 2010, peces: Allibone y Wallis, 1993; Chubb *et al.*, 1998; Berrebi *et al.*, 2005 y camarones: Bebler y Foltz, 2004; Valles-Jimenez *et al.*, 2005; Cook *et al.*, 2008, 2010; Page *et al.*, 2008).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diversidad y estructura genética de las poblaciones depende de factores como la filogeografía, la historia demográfica de la población y su tamaño efectivo, el flujo génico, la deriva genética, entre otros. No obstante, estos factores son influenciados por diversos procesos (ecológicos, climáticos y oceanográficos) que ocurren a diferentes escalas espaciales y temporales (Freeland, 2005).

Las poblaciones se estructuran o divergen en cuanto a su composición genética cuando no existe flujo génico entre ellas, cuando éste es demasiado bajo para homogeneizar las poblaciones o cuando se seleccionan, según el ambiente, diferentes rasgos entre ellas. Por esto, el análisis de la composición genética de las poblaciones de *Neritina virginea* en las bahías que conforman el delta del río Atrato y la explicación de su estructura genética, deben ser abordadas de manera integral, ya que el golfo de Urabá es un sistema complejo y dinámico en el cual interactúan variables oceanográficas, climáticas, geomorfológicas y ecológicas (García-Valencia, 2007), que pueden o no estar propiciando el flujo génico entre las poblaciones.

La estructuración genética de las poblaciones puede deberse a procesos que ocurren tanto a escalas regionales (circulación de corrientes y aislamiento geográfico) como locales (geomorfología de las bahías y micro-corrientes). A la escala regional, la circulación de las corrientes de agua podría estar separando las poblaciones de *Neritina virginea* del norte (Bahía El Roto) de las del sur (Bahía Marirrí) ya que la pluma del Atrato y las larvas que esta transporta, evacuan el Golfo por el sector oriental en dirección norte dividiéndolo en dos partes. Adicionalmente, el aislamiento geográfico de las poblaciones podría explicar una posible estructuración genética de las poblaciones, si a medida que aumenta la distancia geográfica entre ellas incrementa también la distancia genética.

A la escala local, la geomorfología de las bahías y la generación de micro-corrientes al interior de estas puede, de igual forma, ayudar a explicar la estructura

genética de las poblaciones. Las bahías con morfología abierta como El Rotico, Candelaria y Marirrí, permiten mayor intercambio entre la masa de agua dulce que sale por las bocas y el agua marina. De esta manera se podría producir mayor intercambio de larvas y flujo génico, incrementando la homogeneidad genética de estas poblaciones. Se esperaría un comportamiento contrario en bahías de morfología más estrecha como Cocogrande, Burrera y La Paila, que pueden producir el confinamiento de las aguas al interior de las mismas disminuyendo el intercambio de larvas y por ende el flujo génico. Por este motivo, se esperarían poblaciones más estructuradas genéticamente.

En la actualidad, se desconocen la composición genética y los índices de diversidad genética de *N. virginea* en el golfo de Urabá. Igualmente, se ignora si las poblaciones ubicadas en el delta del río Atrato se encuentran genéticamente diferenciadas.

Por lo anterior se plantean las siguientes preguntas:

- ¿Cuál es la diversidad y composición genética de *N. virginea* en el delta del río Atrato?
- ¿Cuál es el patrón de la estructura genética poblacional de *Neritina virginea* a lo largo del delta del río Atrato?

Con el fin de abordar estas preguntas se proponen los objetivos mencionados en la siguiente sección.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

- Evaluar la diversidad, la composición y la diferenciación genética de las poblaciones de *Neritina virginea* presentes en el delta de río Atrato en el golfo de Urabá.

4.2 ESPECÍFICOS

4.2.1 Estimar la diversidad y la composición genética de las poblaciones de *Neritina virginea* ubicadas en el delta del río Atrato.

4.2.2 Establecer el patrón de estructura genética de las poblaciones de *Neritina virginea* en el delta del río Atrato.

5. HIPÓTESIS

Las poblaciones de *Neritina virginea* del delta del río Atrato se encuentran genéticamente diferenciadas producto de los patrones de circulación predominantes y la morfología de las bahías que conforman el delta.

6. ÁREA DE ESTUDIO

6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

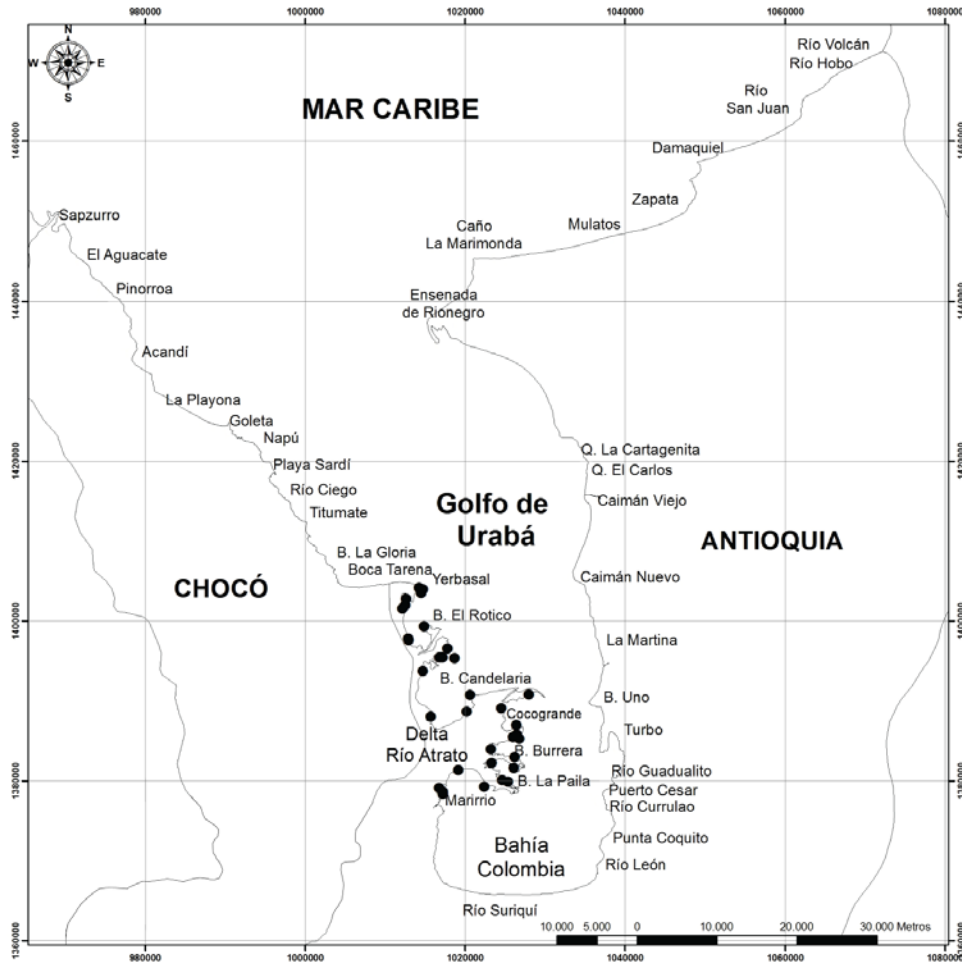
El golfo de Urabá (Latitud: 7° 50'-8° 56' N y longitud: 77° 22'-76° 25' W) está ubicado en el extremo noroccidental de Colombia entre los departamentos de Antioquia y Chocó, al noroeste está limitado por Cabo Tiburón (Chocó) y al noreste por Punta Arboletes (Antioquia). Este accidente costero que comprende un área de 4290 Km², es la mayor entrada del mar Caribe en territorio colombiano (García-Valencia, 2007) Además, se caracteriza por ser un cuerpo de agua semicerrado y alargado en dirección N-S, que posee en promedio 80 Km de largo, 25 Km de ancho y profundidades de 34 m (Fig. 1) (Bernal et al., 2005 b; García-Valencia, 2007).

El golfo de Urabá es considerado el estuario más grande del Caribe colombiano ya que en la región desembocan numerosos ríos, quebradas, arroyos y caños. En el costado sur occidental vierte sus aguas el río Atrato, que pertenece a la zona norte de la cuenca pacífica colombiana (Restrepo y Kjerfve, 2000). La cuenca del río Atrato presenta características compartidas con las cuencas de los ríos San Juan y Patía, tales como: los altos índices de pluviosidad (5600 mm/año), las altas elevaciones de las cabeceras de los ríos y la gran actividad tectónica (Restrepo y Kjerfve, 2000). Debido a estas características, el río Atrato exhibe altas descargas de agua y de sedimentos anualmente (81.08 Km³ y 11.26 x 10⁶ ton, respectivamente). Estas cifras, elevadas con relación al tamaño de su cuenca de aproximadamente 35.7 x 10³ Km², permiten considerarlo como el segundo río más caudaloso y con mayor aporte de sedimentos al Caribe colombiano, después del río Magdalena que posee una cuenca 7 veces más grande que la de aquel (Restrepo y Kjerfve, 2000, Garcia-Valencia 2007).

Por otro lado, en el sector suroriental y oriental desembocan ríos de menor caudal como son: Suriquí, León, Currulao, Guadualito, Caimán nuevo, Caimán viejo,

Turbo, entre otros. La dinámica existente entre el aporte de agua dulce por parte de los ríos mencionados y el de agua salada por el mar Caribe genera una circulación de tipo estuarina (Bernal et al., 2005 b).

Figura 1. Mapa del golfo de Urabá mostrando los puntos de muestreo.



6.2 ASPECTOS GEOMORFOLÓGICOS: EL SECTOR OCCIDENTAL DEL GOLFO DE URABÁ

En función de la interacción del río Atrato con condiciones climáticas, oceánicas, atmosféricas y geológicas a lo largo del tiempo, se han conformado diversos rasgos y unidades geomorfológicas al occidente del golfo de Urabá. El río Atrato

ha dado origen a un delta digitado de tipo fluvial que presenta una extensa planicie deltaica de aproximadamente 700 Km², ésta se extiende al norte hacia el Mar Caribe y en dirección E-W desde el piedemonte oriental de la Serranía del Darién hasta el extremo occidental del golfo de Urabá (Nieto-Oliveros, 2004; Bernal et al., 2005 b).

Según Nieto-Oliveros (2004), la formación deltaica no se restringe únicamente al delta del río Atrato, ya que por su gran extensión intervienen diversas geoformas. La autora las clasifica, de acuerdo con su origen, en cuatro grupos fundamentales: estructural, marino, fluvial y antrópico. A continuación se profundizará en los tres primeros, ya que el cuarto grupo es mucho más notorio en la zona oriental del Golfo que no constituye el foco de estudio.

6.2.1 Unidades de origen estructural

Estas geoformas son originadas como producto de la actividad tectónica reciente de la región y se encuentran sometidas a agentes externos tales como la precipitación, el mar y la ocupación humana.

6.2.1.1 Cuchillas estructurales: Son elevaciones escarpadas de alrededor de 400 msnm constituidas por rocas ígneas extrusivas y vulcano-sedimentarias de la Serranía del Darién que dan lugar a acantilados (García-Valencia, 2007).

6.2.1.2 Conos aluviales: Se encuentran en la zona de piedemonte y presentan patrones de drenaje distributivo y alturas máximas de 50m.

6.2.2 Unidades de origen marino

Son el resultado de las interacciones entre el mar y la tierra, a su vez condicionadas por procesos atmosféricos, antrópicos y tectónicos. Esto genera una dinámica única de las zonas costeras, que son altamente cambiantes y crean

configuraciones nuevas de la zona litoral la mayor parte del tiempo. En el delta del río Atrato predomina la deposición de sedimentos, que son creados y distribuidos por agentes como el oleaje, las mareas y la deriva litoral.

6.2.2.1 Playa. Es el área lavada por las olas cuando rompen en la costa. En la zona oeste del golfo de Urabá, la dirección predominante de las playas es este-oeste.

6.2.2.2 Cordones litorales. Son evidencia de la progradación de la línea de costa y se observan como sucesiones de montículos alargados de entre 50 cm y 1 m de altura, generalmente compuestos por arenas y gravas.

6.2.2.3 Marismas. Constituyen ambientes transicionales entre marinos y continentales, donde el aporte de aguas dulces sumado al flujo de agua salada conduce a la formación de hábitats particulares en los que se desarrollan especies de mangle y otras halófitas. Además, son superficies cenagosas conocidas como turberas por la gran cantidad de material orgánico que retienen.

6.2.3 Unidades de origen fluvial

Como se mencionó anteriormente, en el golfo de Urabá desembocan números ríos. En el costado occidental el río Atrato, al sur los ríos León y Suriquí y en el costado oriental los ríos Currulao, Caimán Viejo, Caimán Nuevo, Turbo y Guadualito. Por ende, se pueden apreciar numerosas geoformas de origen fluvial en la transición del continente hacia el mar, entre las que se sobresalen las llanuras aluviales, las ciénagas y los deltas. Estas constituyen la principal fuente de sedimentos para la formación de playas y la cobertura del fondo del Golfo.

- 6.2.3.1 Canales:** Son las depresiones formadas en el terreno por efecto del flujo de agua. A causa de los bajos gradientes topográficos los ríos de la zona presentan una conformación meandrica.
- 6.2.3.2 Canales distributarios:** Son originados por la división del canal principal en brazos secundarios cuando este alcanza la planicie deltaica. El Atrato presenta siete distributarios principales. Inicialmente, el Atrato se bifurca en dos brazos: el Brazo León, orientado hacia el este, que se divide a su vez en los brazos Leoncito y Burrera emplazados en el sureste del Golfo, y el que va en dirección oeste que continua siendo el Atrato. Posteriormente éste se ramifica para dar origen a: el Brazo Cocos, que más adelante se separa en los brazos Coquitos y Matuntungo que vierten sus aguas en el noreste; el Brazo Pavas, orientado de igual forma hacia el noreste; después aparece, al este, la Boca El Roto y finalmente el Atrato continúa su curso al norte hasta Boca Tarena. Las bahías interdistributarias de Burrera, La Paila, Cocogrande, Candelaria y el Rotico se encuentran enmarcadas dentro de los canales distributarios mencionados anteriormente.
- 6.2.3.3 Diques aluviales:** Son estructuras ligeramente elevadas formadas a lo largo y paralelas a los canales, que resultan de la acumulación de materiales luego de episodios de desborde (Nieto-Oliveros, 2004).
- 6.2.3.4 Llanuras de inundación:** Son planicies extensas, adyacentes a los canales y separadas de estos por sus diques, que se inundan cuando los ríos se desbordan o por efectos de la precipitación. En el delta de río Atrato, las llanuras de inundación permanecen encharcadas formando pantanos o manteniendo las ciénagas (García-Valencia, 2007; Nieto-Oliveros, 2004).
- 6.2.3.5 Paleocanales:** Son canales que el río ha abandonado y por donde ya no se presenta ningún tipo de flujo. Estos representan variaciones en el

curso del río debidas a las condiciones climáticas predominantes y a cambios en la carga sedimentaria.

6.2.3.6 Ciénagas: Son cuerpos de agua ubicados en zonas topográficamente deprimidas. En el sector, la mayoría son permanentes y son abastecidas por la lluvia o el desborde de los ríos. En la región oriental de la llanura aluvial del río Atrato se encuentran cuatro lagunas comunicadas entre si y a su vez con el río Atrato formando una cadena con una extensión de 18 Km. En la región occidental, se encuentran las grandes ciénagas de Unguía y Marriaga y otras más pequeñas como la de El Limón, Ciega y Los Hornos.

6.3 EL AMBIENTE DELTAICO

La interacción entre procesos continentales y oceánicos, en las zonas costeras, da origen a geformas bastante particulares y cambiantes tales como los deltas. Según Bhattacharya (2003) y Seybold *et al* (2007), un delta es un depósito sedimentario costero con partes subacuáticas y subaéreas, que se forma en el punto en el que un río llega al océano, al mar, a un lago, a una laguna o a cualquier cuerpo de agua permanente. La formación del delta tiene lugar cuando las corrientes fluviales desaceleran bruscamente por acción del mar y los sedimentos que estas suministran se acumulan más rápido de lo que pueden ser redistribuidos por las mareas o el oleaje. La morfología y la secuencia sedimentaria de cada delta está determinada por un gran número de variables, entre ellas: el régimen de descarga, la carga sedimentaria del río, la magnitud de las mareas, las corrientes y las olas. De acuerdo con la clasificación de deltas de Galloway (1975), que tiene en cuenta las fuerzas predominantes en su proceso de formación, se reconocen tres categorías principales: deltas dominados por procesos fluviales, mareales o de oleaje. El delta del río Atrato pertenece, según esto, a un delta de tipo fluvial, ya que las influencias de los factores marinos son

mínimas en comparación con los aportes de agua y sedimentos provenientes del río, este se observa como “una pata de ave” (ver Figura 2).

6.3.1 Elementos del delta

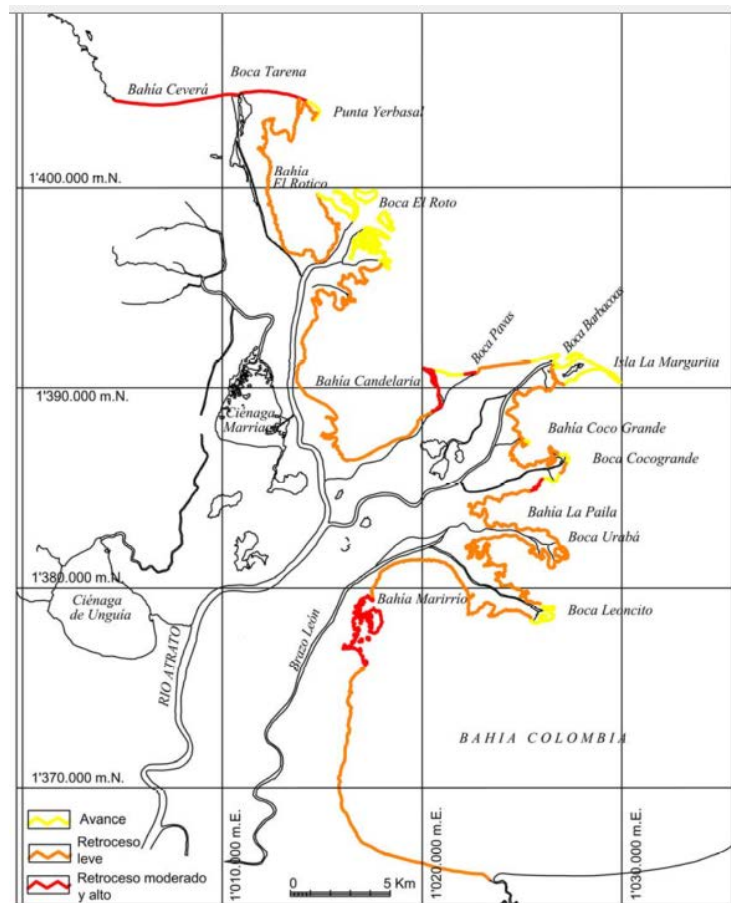
Los deltas son zonas costeras que marcan la transición de condiciones netamente fluviales a marinas. Generalmente, el río divide su canal principal en varios brazos o ríos de menor orden que distribuyen la descarga a través del delta y en la cuenca. De ésta forma, se involucran ambientes subaéreos, intermareales y subacuáticos, estableciéndose tres zonas características (Bhattacharya, 2003; Nieto-Oliveros, 2004):

6.3.1.1 Planicie deltaíca: esta demarcada por la línea de costa, es dominada por procesos aluviales y comprende: canales distributarios con conformaciones meandricas, diques naturales, meandros abandonados, depósitos de crevasse, pantanos, marismas, bahías interdistributarias y llanuras de inundación. Las bahías interdistributarias en el delta del río Atrato pueden ser de morfología abierta (Bahía El Rotico, Candelaria y Marirrí) o cerrada (Bahía Cocogrande, Burrera y La Paila), situación que depende del flujo de agua y sedimentos exportado por cada boca y la acción de las mareas, el oleaje y la deriva litoral en la distribución de los mismos (Figura 2).

6.3.1.2 Frente deltaico: corresponde a la porción submareal del delta que es afectada principalmente por procesos marinos como el oleaje. En su llegada al mar, la velocidad del flujo se reduce notablemente, produciéndose la segregación de sedimentos en función de su tamaño. Los sedimentos más finos tienden a transportarse hacia afuera mientras que los más gruesos se depositan cerca de las bocas de los distributarios. Por tal motivo, es en esta zona donde ocurre la mayor deposición de sedimentos.

6.3.1.3 Prodelta: en esta zona, estrictamente submareal, es donde ocurre la deposición de los sedimentos más finos suspendidos (limolitos y arcillas) que son enterrados dependiendo de la tasa de sedimentación.

Figura 2. Morfología y estados de la línea de costa del delta del río Atrato. Tomada de Nieto-Oliveros, 2004.



6.4 ASPECTOS CLIMATOLÓGICOS

La climatología en el golfo de Urabá, localizado geográficamente en la zona de circulación ecuatorial marítima, está influenciada a lo largo del año por el Mar Caribe y las cuencas de los ríos Atrato y León (Pacífico colombiano) (García-Valencia, 2007). Así mismo, el desplazamiento oscilatorio de la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) juega un papel importante en la determinación de dos estaciones climáticas bien definidas: la época seca y la lluviosa. Entre los meses de diciembre a marzo la ZCIT alcanza su posición más septentrional sobre el océano Pacífico al sur de Colombia, favoreciendo el desarrollo de la época seca. Mientras que durante el período comprendido entre los meses de mayo y noviembre, la ZCIT se desplaza hacia el norte situándose sobre la zona del Chocó y el golfo de Urabá, permitiendo así el inicio de la temporada lluviosa (Bernal et al., 2005 b; García-Valencia, 2007). A continuación se describen brevemente algunas de las características climatológicas de la zona más relevantes para este estudio.

6.4.1 Temperatura del aire

Por lo general, la temperatura en el Trópico presenta poca variabilidad estacional. En el caso del Golfo, la temperatura media anual es de 27°C y los valores de temperatura intraanuales e intradiarios fluctúan en promedio entre los 26 y 28°C, presentándose las temperaturas máximas (40°C) desde marzo hasta junio y las mínimas (19°C) en febrero, agosto y octubre (Correa y Vernet, 2004; García-Valencia, 2007).

6.4.2 Vientos

Durante la estación seca (diciembre-abril) predominan los vientos Alisios provenientes del norte y del nordeste, que se caracterizan por: su intensidad y velocidad (promedio: 3-4 m/s, máximo: 9.4 m/s), la gran estabilidad atmosférica que proporcionan, la ausencia de nubosidad y de

precipitación y el bajo contenido de humedad en la atmósfera (Correa y Vernet, 2004; García-Valencia, 2007; Osorio *et al.*, 2010b). En cambio, en la estación húmeda el Golfo se ve principalmente afectado por vientos débiles (2 m/s) provenientes del Pacífico que ingresan por el sur y el suroeste, estos se distinguen por la alta humedad que transportan (que ocasiona el aumento de la pluviosidad) y porque presentan direcciones muy variables y de poca estabilidad (Correa y Vernet, 2004; García-Valencia, 2007; Osorio *et al.*, 2010b).

6.5 ASPECTOS HIDROLÓGICOS

En esta sección se describen algunos aspectos hidrológicos de la región tales como: la precipitación y los caudales.

6.5.1 Precipitación

Según los datos proporcionados por García-Valencia (2007), la precipitación anual promedio en el Golfo es de 2500 mm y su distribución es monomodal, con un periodo lluvioso entre mayo y noviembre y un periodo de estiaje entre diciembre y abril. Se registran, durante la estación seca apenas 100 mm de lluvia (dato para febrero), en comparación con la estación lluviosa donde se registran en promedio 250 mm de precipitación (dato para noviembre).

6.5.2 Caudales de los principales tributarios

En el Golfo desembocan, entre otros, los ríos Atrato, León, Turbo, Caimán Nuevo, Caimán Viejo, Currulao y Guadualito. Sin embargo, el que aporta el mayor caudal es el río Atrato (2740 m³/s) este es repartido por varias bocas, donde se destacan: El Roto (boca principal), Tarena, Pavas, Matuntungo, Cocogrande, Urabá y Leoncito (Restrepo y Kjerfve, 2000). El segundo

aporte más importante es el del río León con $70.7 \text{ m}^3/\text{s}$, seguido por los ríos Currulao, Mulatos, Turbo y Guadualito (Montoya, 2010).

6.6 ASPECTOS OCEANOGRÁFICOS: EL GOLFO DE URABÁ ES UN GRAN ESTUARIO

De acuerdo con Pritchard (1967), un estuario es un cuerpo de agua costero semicerrado que tiene una conexión abierta con el mar y dentro del cual, el agua de mar es diluida con agua dulce derivada del drenaje terrestre. La dinámica observada en el golfo de Urabá se ajusta bastante bien a esta definición, ya que es el lugar donde ocurre la mezcla del agua dulce que aportan los diferentes tributarios con las aguas del mar Caribe (Bernal et al., 2005 b). Las características de los estuarios (tamaño, volumen, salinidad, temperatura, etc.) dependen de las cualidades físico-químicas y biológicas de las aguas (dulce y marina), así como del grado de mezcla que ocurra entre ellas, dado este en función del flujo de agua de los ríos, las mareas, el oleaje, los vientos, entre otros (Roldán, 2008). Por consiguiente y con el fin de profundizar más sobre estos aspectos se tratarán a continuación aquellos temas relacionados con procesos y condiciones fisicoquímicas, oceanográficas e hidrodinámicas en el golfo de Urabá.

6.6.1 Características fisicoquímicas del agua

6.6.1.1 Temperatura

En la estación seca, la temperatura superficial (1 m) del agua es de 28.5° . No obstante, en las bocas del Atrato se evidencia un gradiente de temperatura horizontal con aguas que van desde los 28.25°C hasta los 27.4°C . En este período, las aguas más frías entran al Golfo por el costado occidental y las más cálidas, provenientes del río Atrato, salen por el sector oriental. Este patrón se mantiene constante hasta los 40 m

de profundidad, a partir de los cuales se produce una inversión (García-Valencia, 2007). La variación de temperatura entre la superficie y el fondo no supera los 1.5°C. De igual forma, para la estación húmeda la temperatura superficial promedio es de 28.5°C. Sin embargo, a diferencia de la estación seca, las aguas más frías (26°C) provienen de los ríos Atrato (Boca El Roto) y León. Este comportamiento persiste hasta los 20m evidenciándose el efecto de la descarga fría del continente. Las variaciones de temperatura entre la superficie y el fondo para esta época del año son de hasta 3.6°C (García-Valencia, 2007).

6.6.1.2 Salinidad

En el Golfo la salinidad se distribuye diferencialmente en las dos temporadas climáticas. Además, se presenta una fuerte estratificación salina, con aguas más dulces circulando superficialmente (en los primeros 2 metros) y aguas mixto (30‰ y 35‰) a eurihalinas (>35‰) circulando en profundidad (Bernal *et al.*, 2005; Montoya y Toro, 2006). Durante la estación seca, se registran salinidades superficiales que van desde 2‰ hasta 36‰, indicando la existencia de aguas dulces y polihalinas, esto ocurre en un gradiente horizontal que va desde Bahía Colombia hacia el exterior del Golfo (Bernal *et al.*, 2005 b). Sin embargo, durante este periodo poco lluvioso, las aguas superficiales del Golfo son principalmente oligohalinas (2‰), esta situación se debe a la intervención de los vientos Alisios del norte y nordeste, los cuales restringen las aguas dulces de los ríos a sus desembocaduras y desvían la pluma del río Atrato hacia el sur confinando sus aguas (Montoya y Toro, 2006).

Por otra parte, en la estación húmeda la salinidad superficial aumenta considerablemente con valores de 30‰ en Bahía Colombia, Bahía Candelaria y la entrada del Golfo y se mantiene baja en las bocas de los

ríos (Chevillot *et al.*, 1993). A partir de los 5 metros de profundidad, el agua dulce se concentra alrededor de las desembocaduras de los ríos y el resto del Golfo es ocupado por aguas mixohalinas y eurihalinas, que según Chevillot *et al.* (1993) pueden provenir de un ramal de la Contracorriente de Panamá, esto ocurre en las dos épocas climáticas. En general, autores como Bernal *et al.* (2005), Chevillot *et al.* (1993), García-Valencia (2007) y Molina *et al.* (1992) coinciden en que las aguas mixohalinas y marinas ingresan al Golfo por el occidente hasta Boca Tarena y las aguas polihalinas se concentran y salen básicamente por el sector oriental, este patrón se aplica para las dos épocas climáticas y para las diferentes profundidades.

6.6.1.3 Oxígeno disuelto

En la época seca, los valores fluctúan entre 3 y 7.5 mg/L en superficie y en el fondo. En Bahía Colombia se alcanzan valores de hasta 7 mg/L producto de la circulación superficial generada por los vientos, por el contrario para el sector de Boca Tarena y sus alrededores a lo ancho del Golfo se registran valores muy bajos. De otro lado, durante la época húmeda, los valores superan los 5 mg/L en la mayor parte del Golfo, exceptuando algunas áreas como los fondos de Bahía Colombia y ciertas bocas del Atrato en donde los valores son muy bajos. Además, desde los 5 metros hasta las zonas más profundas, es obvio un gradiente ascendente en sentido sur-norte cuyos valores van desde 4.2 mg/L en Bahía Colombia hasta 7 mg/L en el sector noroccidental del Golfo.

6.6.2 La circulación en el golfo de Urabá

Inicialmente, fueron Molina *et al.*(1992) quienes describieron la circulación de las aguas superficiales en el golfo de Urabá usando imágenes de satélite en donde visualizaron la distribución horizontal de los sedimentos de los ríos Atrato y Turbo. Los autores concluyeron que la circulación, influenciada por la contracorriente de Panamá, se da esencialmente en dos direcciones: en el flanco occidental va de norte a sur, a la altura de Bahía Colombia cambia su rumbo al oriente y continúa hacia el norte por el costado oriental. También, notaron que la pluma del Atrato se inclina hacia el sur por acción de los vientos Alisios del norte durante la época seca. Adicionalmente, los autores describen una deriva litoral en la costa con dirección norte-sur que se desplaza por ambos márgenes del Golfo (Figura 3).

Posteriormente, Montoya y Toro (2006) utilizando un modelo ELCOM corroboraron lo sugerido por Molina *et al.*(1992) y Chevillot *et al.* (1993), es decir, que cuando los vientos soplan del sureste, en época húmeda, la pluma del Atrato sale fácilmente del Golfo recostada por la costa oriental hacia el noreste dejando a Bahía Colombia con salinidades altas, mientras que cuando soplan del noreste la pluma gira hacia el sur y entra hasta la bahía volviéndola más oligohalina. De acuerdo con Roldán *et al.* (2008), la capa horizontal superficial es la más importante ya que se encuentra en contacto directo con el viento y con los flujos superficiales de los ríos, factores determinantes en la formación de las corrientes. Debido a esto y a que las corrientes superficiales del Golfo son las más definidas y las mayores en magnitud, son estas las que dominan los patrones de circulación en todo el Golfo.

Recientemente, un estudio de los patrones de circulación en Bahía Colombia demostró que hay dos capas de agua bien definidas una superficial de agua dulce (4-6 m) y debajo de ésta una capa densa de agua marina. En la temporada lluviosa, se forman dos vórtices uno en el

occidente que gira en sentido horario y otro en el oriente que gira en sentido antihorario, lo que genera una fuerte corriente en dirección sur-norte. Además, las descargas de las bocas Cocogrande, Urabá y del río León se dirigen al norte por el costado oriental del Golfo. En contraste, durante la época seca, se observan tres grandes corrientes superficiales (una occidental, una central y una oriental) que van de norte a sur confinando las aguas al interior de Bahía Colombia y generando una contra corriente hacia el norte a 4m de profundidad que sale por el centro de la bahía (Roldán *et al.*, 2008) (Figura 4).

Figura 3. Esquematización de la circulación de las corrientes en el golfo de Urabá. A) Época seca B) época húmeda. Modificado de Chevillot *et al.* (1993)

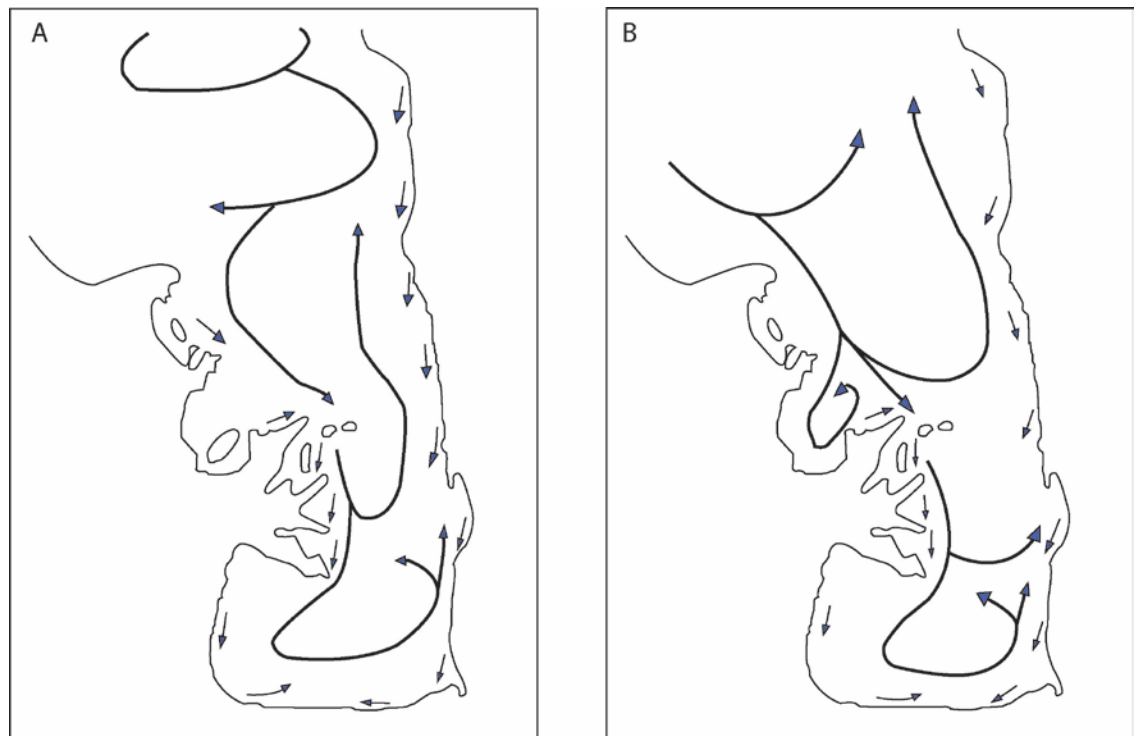
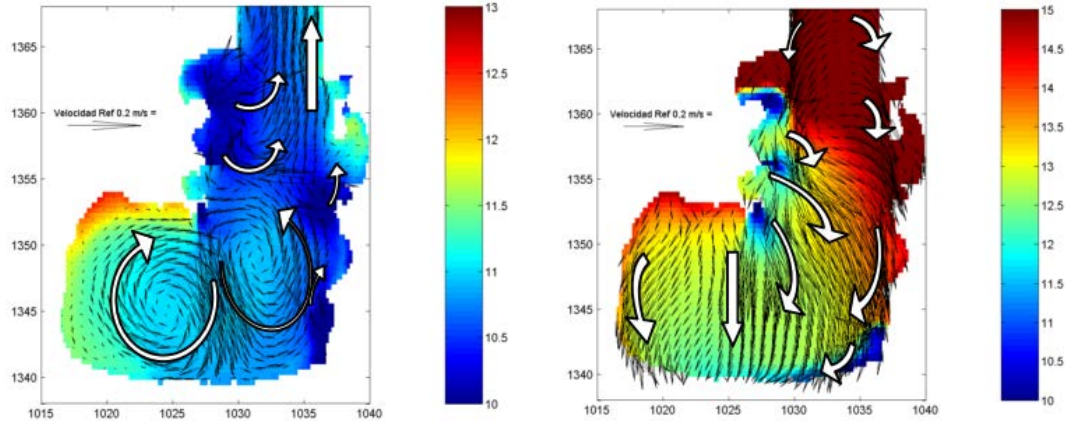


Figura 4. Circulación de las aguas superficiales en el golfo de Urabá. Izquierda: época húmeda, derecha: época seca. Tomado de Roldán *et al.* (2008)



6.6.3 El oleaje

En un primer estudio realizado por Chevillot *et al.*(1993), se reportaron oleajes fuertes en la zona durante la época seca, con una frecuencia de 10% para olas de más de cuatro metros de altura y de 3% para olas mayores de seis metros. Más adelante, Osorio *et al.* (2010a) estudiaron en detalle el oleaje en diferentes sitios del golfo de Urabá. Existen dos tipos de oleaje: el **local o Sea** que es generado por la acción directa y continua del viento sobre la superficie del agua y el **de fondo o Swell** que se genera lejos de la zona de estudio y se propaga a través de la superficie del mar sin estar sometido a la acción del viento (Osorio *et al.*, 2010 b). Los autores encontraron que en el golfo de Urabá se presentan dos zonas dominadas por estos tipos de oleaje:

- La zona 1 está dominada por el oleaje de fondo que va desde el límite exterior del Golfo, entre Capurganá y Punta Caribaná, hasta los deltas de los ríos Atrato y Turbo.

- La zona 2 está dominada por el oleaje local debido a que la energía del oleaje tipo *Swell* se disipa en su ingreso al Golfo, comprende principalmente a Bahía Colombia.

Adicionalmente, encontraron que las olas de mayor magnitud se presentan cuando soplan los fuertes vientos del norte y del nordeste durante la época seca. El sector occidental del Golfo es el que se encuentra más expuesto al embate directo del oleaje proveniente del Caribe, lo que incrementa la erosión de la línea costera. Por el contrario, la zona oriental parece estar más resguardada de los efectos del oleaje (Bernal et al., 2005 b).

6.6.4 Las mareas

La marea astronómica es producida por el efecto de las fuerzas gravitacionales ejercidas por la Luna y el Sol sobre la Tierra en rotación, induciendo cambios importantes del nivel del mar. En algunos estuarios las mareas juegan un papel determinante en el grado de mezcla de las aguas dulces y marinas, en otros su efecto puede ser despreciado en los procesos de mezcla (Montoya y Toro, 2006). En el golfo de Urabá el régimen de mareas es de tipo semidiurno, mixto y micromareal, con amplitudes que no superan los 40 cm (Thomas *et al.*, 2007; Roldán *et al.*, 2008). Según Montoya y Toro (2006), este régimen micromareal puede favorecer o dificultar la descarga de la pluma del río Atrato y afectar su estructura vertical localmente, esto último lo sugiere la presencia de oscilaciones en la haloclina. Igualmente, la marea puede afectar durante el día la dirección de la pluma por la generación de flujos y reflujos de acuerdo con su entrada o su salida (Bernal et al., 2005 b). Por lo anterior, las mareas deben tenerse en cuenta cuando se estudia el patrón de mezcla en el golfo de Urabá.

6.6.5 Modelos de dispersión de sedimentos

La pluma del río Atrato es un factor primordial cuando se pretende analizar la dispersión de sedimentos superficiales al interior del golfo de Urabá, ya que la circulación general depende del comportamiento de la pluma. De un lado, el Atrato es el río que mayor cantidad de sedimentos aporta a la zona (11.26×10^6 ton/año), seguido por el río León (Restrepo y Kjerfve, 2000). De otro lado, la gran cantidad de agua proporcionada por éste conduce a una fuerte estratificación salina ocasionada por la diferencia de densidad entre las dos capas de agua (fluvial y oceánica). Por consiguiente, los sedimentos finos tienden a concentrarse principalmente en la capa superficial y disminuyen con el aumento profundidad. Debido a esto la dinámica de los sólidos suspendidos es equivalente a la de la pluma de agua dulce del río, se dirigen hacia la costa este y son expulsados por el noreste (Montoya, 2010). Por lo anterior, la costa oriental y Bahía Colombia son las zonas con mayor influencia de sedimentos superficiales, además esta última recibe los aportes del río León, en contraste el noroeste está protegido de la descarga sedimentaria (Bernal et al., 2005 b). Del análisis de los sedimentos depositados en el fondo marino y con el fin de establecer los patrones de dispersión y transporte de estos, se distinguen tres zonas características: 1) Al noroeste el transporte es de norte a sur y está relacionado con aportes oceánicos, 2) El centro del Golfo influenciado por los aportes del río Atrato y 3) La zona sur de Bahía Colombia, en donde los aportes del Atrato y del León son esenciales (Álvarez y Bernal, 2007; Toro *et al.*, 2008). Finalmente, con relación al transporte de sedimentos costeros Velásquez (2005) encontró que la deriva litoral es un factor de suma importancia en éste proceso, ya que la dirección predominante de transporte es hacia el sur en ambas costas del Golfo.

7. ORGANISMO DE ESTUDIO

Neritina (Vitta) virginea (Linné, 1758) es un gasterópodo longevo que pertenece a la familia Neritidae (Kano, 2006). Su alimentación está basada en el consumo de algas (diatomeas) o de detritos, por lo general se alimentan en la noche y son de hábitos gregarios (Matthews-Cascon y Martins, 1999; Tan y Clements, 2008). Con respecto al hábitat, estos organismos pueden encontrarse en ríos costeros, frentes deltaicos, estuarios y en menor medida ambientes marinos como lagunas costeras (Blanco y Scatena, 2005, 2007). También pueden localizarse sobre arena, pantano, troncos y hojas de manglar (Ortiz y Blanco, 2012). En general, las conchas de los nerítidos pueden ser altamente polimórficas ya que exhiben una amplia variedad de patrones y coloraciones, por ende es fundamental tener cuidado en su identificación taxonómica (Tan y Clements, 2008).

Las especies del género *Neritina*, y en general las de la familia Neritidae, se reconocen porque poseen reproducción sexual y características sexuales secundarias bien diferenciadas entre machos y hembras (sólo visibles mediante disección) (Haynes, 2005).

7.1 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Neritina virginea tiene una extensa distribución geográfica que comprende sitios en todo el Caribe, desde la Carolina del Norte hasta el sur de Brasil y desde el golfo de México y América central hasta las Antillas (Andrews, 1940; Broek, 1950; Matthews-Cascon y Martins, 1999; Beasley *et al.*, 2005; Blanco y Scatena, 2005; Ortiz y Blanco, 2009) (ver Figura 5). Su presencia puntual ha sido reportada en numerosas publicaciones sobre la composición, distribución y abundancia de la malacofauna estuarina en varios países de Centro y Suramérica (Brasil: Beasley *et al.*, 2005, Farrapeira *et al.*, 2009; Colombia: Ortiz y Blanco, 2009; México: García-Cubas y Reguero, 1995, Tepletan y Aldana-Aranda, 2007, Vicencio de la Cruz y González-Gándara, 2006; Venezuela: Lasso *et al.*, 2009).

Figura 5. Distribución geográfica de *Neritina virginea*.

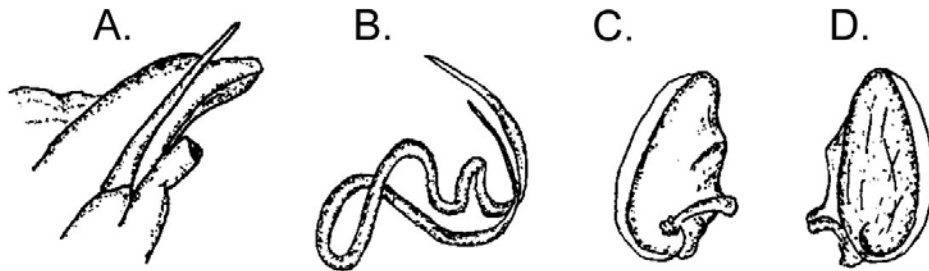


7.2 MORFOLOGÍA EXTERNA Y REPRODUCTIVA

Esta especie se caracteriza por presentar una concha lisa y redondeada, generalmente de color café con patrones de líneas, manchas o puntos más claros dibujados sobre ésta. Los tamaños de la concha varían entre 4 y 25 mm, desde los individuos recién reclutados hasta los adultos (Blanco y Scatena, 2005). Además, exhibe 2 espiras en la protoconcha y 3 espiras en la teleoconcha, siendo la espira corporal la más desarrollada. Presenta una zona ventral con un área columelar blancuzca y en el área parietal se observan dos dientes grandes en el medio y de 9 a 11 pequeños a cada lado. La concha posee una abertura ovalada que mide aproximadamente $2/3$ de la espira corporal y es cerrada por un opérculo calcáreo de color oscuro (negro o café), cuya superficie externa es lisa y presenta un pequeño gancho puntiagudo en uno de sus extremos (Figura 6 C y D). El labio externo es delgado, pero es engrosado hacia el interior por el callo (Martins *et al.*, 2002). Internamente, las hembras presentan dos gonoporos uno es por donde sale la cápsula ovígera y el otro es la vagina. El conducto vaginal es largo y la vagina

está ubicada cerca del saco espermático, que contiene entre cinco y siete espermatozoides. Tanto la vagina como el ovario están conectados con la glándula de la albumina y con la glándula de la cápsula (Matthews-Cascon y Martins, 1999). En los machos, el pene está ubicado detrás de la cabeza y no presenta ninguna funda (Haynes, 2005) (Figura 6 A y B).

Figura 6. Morfología reproductiva de *Neritina virginea*. A) Vista dorsal del pene. B) Espermátforo. C) y D) Opérculo (vistas interna y externa respectivamente). Tomado y modificado de Haynes (2005).



7.3 REPRODUCCIÓN Y CICLO DE VIDA

Tal como se mencionó al inicio del capítulo, en este caracol los sexos están separados y las características sexuales secundarias se encuentran bien diferenciadas entre machos y hembras. Además la fecundación es interna y el desarrollo es ovovivíparo.

Las hembras son las encargadas de depositar y fijar las cápsulas ovígeras sobre superficies firmes y disponibles como por ejemplo: trozos de madera, rocas, hojas caídas y conchas de otros caracoles. Estas cápsulas son alargadas y blancas en el momento en que se depositan, pero se tornan amarillas a medida que ocurre el desarrollo; cada cápsula tiene en promedio 45 huevos (Andrews, 1935; Matthews-Cascon y Martins, 1999). El desarrollo larval ocurre, según Matthews-Cascon y Martins (1999) en tres etapas: primero se da el proceso de clivaje, que tiene una

duración aproximada de 72 horas, seguido de la etapa trocofera, con igual duración y por último tiene lugar la etapa velígera, en la que las larvas ya han desarrollado la protoconcha I y el estatocisto, esta etapa puede durar en promedio 144 horas. En total, un juvenil puede requerir alrededor de 12 días para completar su desarrollo.

Por otra parte, esta especie presenta un ciclo de vida anfídromo característica que le ha permitido colonizar gran variedad de hábitats (Crandall, 1999). En este ciclo de vida los adultos viven, se reproducen y ovipositan las cápsulas ovígeras en las partes medias y bajas de los ríos y quebradas costeras, posteriormente los huevos eclosionan y las larvas planctotróficas son arrastradas por la corriente río abajo hasta los océanos, donde encuentran las condiciones óptimas de salinidad y alimento para desarrollarse exitosamente. Después las larvas se convierten en reclutas (pequeños caracoles) que se asientan cuando el entorno es bueno y migran río arriba para iniciar nuevamente el ciclo (Crandall *et al.*, 2010). Este tipo de migraciones, al parecer, obedece a una reotaxis positiva y ha sido observado tanto en campo como en el laboratorio por varios estudios (Crandall, 1999; Blanco y Scatena, 2005, 2006, 2007). No obstante, en los manglares las migraciones pueden darse vertical u horizontalmente y están más relacionadas con los ciclos mareales diarios y mensuales (Ortiz y Blanco, 2012).

Adicionalmente, se ha estimado por medio de experimentos in-vitro que la duración de la larva pelágica (*PLD: Pelagic Larval Duration*) está entre 40 y 98 días (Kano, 2006; Crandall *et al.*, 2010), lo que es un período relativamente largo en comparación con otros invertebrados marinos y estuarinos. Sumado a lo anterior y pese a que han sido descritos algunos comportamientos larvales en la columna de agua como por ejemplo cierta movilidad horizontal y la tendencia a permanecer en superficie (fototaxismo positivo) en algunos nerítidos del Pacífico (Crandall, 1999), ciertos autores han sugerido que el movimiento de las larvas velígeras está determinado principalmente por las corrientes oceánicas que les permiten recorrer enormes distancias (Scheltema, 1971; Lee y Boulding, 2009).

8. METODOLOGÍA

8.1 MÉTODOS DE CAMPO: MUESTREO

El muestreo se realizó dentro del marco de la Expedición Estuarina al golfo de Urabá Fase I, en donde participaron investigadores de la Universidad Nacional, la Universidad de Antioquia y EAFIT. Las muestras utilizadas para el desarrollo del presente trabajo de grado fueron obtenidas y preservadas por Ortiz y Blanco (2009, 2012), los procedimientos y las condiciones mediante las cuales fueron recolectadas se explican brevemente a continuación.

Durante el año 2009, se llevaron a cabo dos salidas de campo que consistieron en un pre-muestreo (3-14 de junio), durante el cual se hizo el reconocimiento del sitio y se ubicaron las áreas con manglar y un muestreo (3-10 de agosto) en donde se procedió a la colecta de los organismos con un énfasis especial en el delta del río Atrato, región que concentra la mayor extensión de manglar. El muestreo consistió en recoger al azar y por un período de 20 minutos los caracoles que se encontraran sobre el suelo, raíces o troncos a lo largo de un transecto de 50 metros. Este procedimiento se repitió en cada uno de los sitios de muestreo, en donde se recolectaron entre 50 y 200 individuos por punto (para más detalles ver: Ortiz y Blanco, 2009, 2012). Posteriormente las muestras fueron preservadas en alcohol al 70% y refrigeradas a 4°C para el análisis genético. Para este estudio el tamaño de la muestra estuvo determinado por el número de especímenes colectados en las bahías El Rotico, Candelaria, Cocogrande, Burrera, La Paila y Marirríó durante dicha Expedición (Figura 7).

Adicionalmente, cada sitio de muestreo fue georeferenciado y se midieron *in-situ* variables fisicoquímicas del agua como temperatura, pH, salinidad y oxígeno disuelto utilizando una sonda multi-paramétrica YSI modelo 85 y un peachímetro Hanna (HI98128) (ver tabla 1). En las estaciones en las que no fue posible medir

las variables se emplearon los datos de referencia reportados en el “Atlas del golfo de Urabá” para la temporada de muestreo (García-Valencia, 2007).

Figura 7. Ubicación de los puntos de muestreo. Modificado de Ortiz y Blanco, (2009).

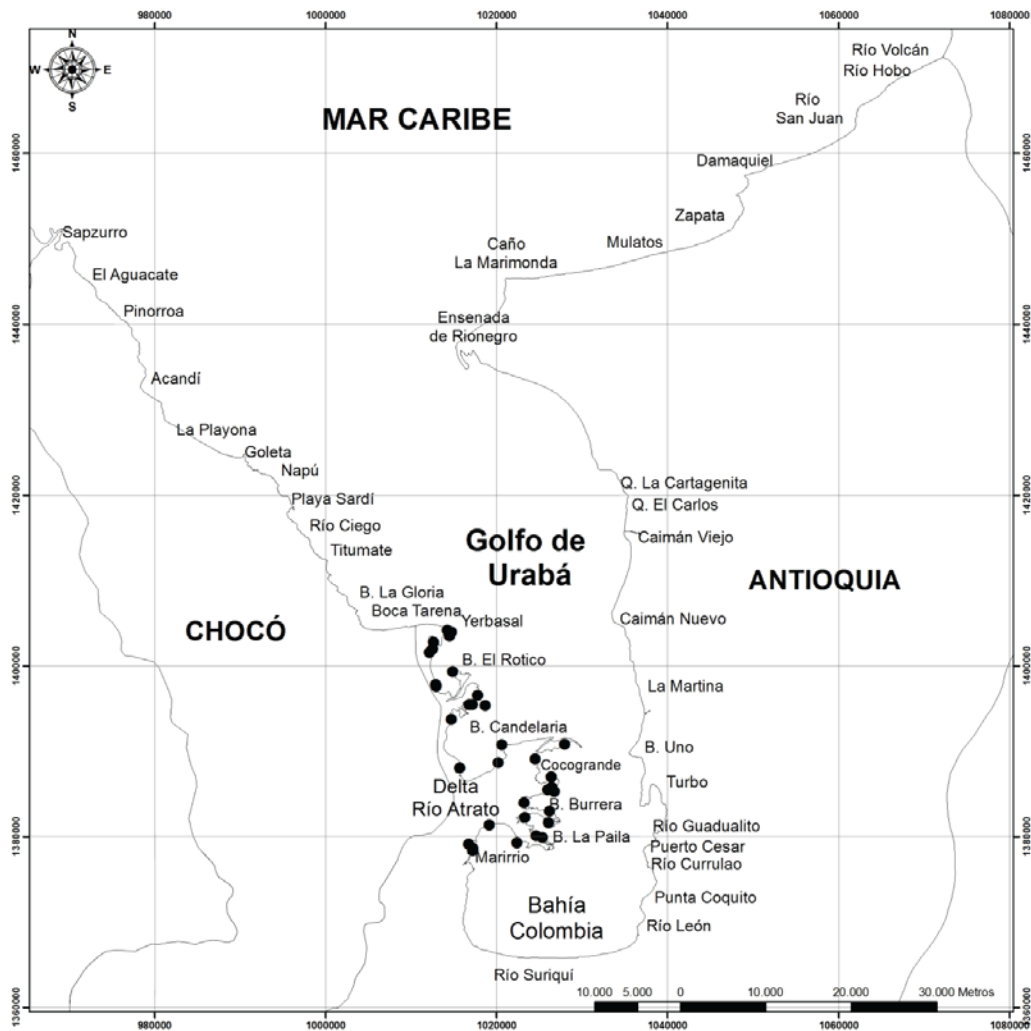


Tabla 1. Localización, parámetros fisicoquímicos y tamaño de la muestra para cada una de las bahías (se indican varias estaciones o poblaciones dentro de cada bahía). Modificado de Ortiz y Blanco (2009).

Bahía	Coordenadas		Parámetros Fisicoquímicos				N*
	N (X)	E (Y)	OD* (mg/L)	T (°C)*	pH	Sal* (ups)	
Yerbasal	1014505	1403496	5.7	29.4	7.90	2.7	13
	1014726	1403989	6.3	30.2	7.40	2.4	
El Roto	1012615	1402738	3.8	29.8	7.69	1.7	41
	1012177	1401566	2.8	29.1	6.10	1.9	
	1012940	1397611	5.2	29.6	7.43	0.1	
	1012915	1397811	7.0	29.8	8.30	4.0	
	1014895	1399300	2.9	29.6	6.48	0.2	
Candelaria	1017163	1395446	7.4	29.4	7.78	1.4	33
	1017777	1396560	3.4	30.7	7.24	0.8	
	1016824	1395437	5.9	30.7	7.45	6.0	
	1014713	1393750	4.4	31.9	7.08	0.6	
Cocogrande (La Margarita)	1026465	1385813		33.4	7.59	4.0	19
	1027969	1390827	5.2	28.3	7.32	4.4	
	1024548	1389089	3.2	28.8	6.91	7.8	
	1026408	1386992	4.6	28.6	7.11	2.9	
Burrera	1025996	1385498	5.2	28.1	7.24	1.9	14
	1023249	1383974	2.8	29.5	7.05	2.0	
La Paila	1026123	1381598	5.9	29.4	7.55	3.3	27
	1023356	1382225	5.1	29.3	7.42	7.3	
	1025370	1379881	5.3	29.8	7.37	5.8	
Marirrí	1017218	1378368	7.6	30.6	8.07	4.5	23
	1019141	1381376	5.5	27.7	7.30	3.9	
	1016738	1379106	0.7	27.7	6.81	6.8	
Ensenada de Rionegro	1018245	1435579	2.4	27.1	6.60	16.1	3
Total							173

*OD: oxígeno disuelto en mg/dL, T: temperatura en grados centígrados, Sal: salinidad en ups, N: tamaño de la muestra.

8.2 MÉTODOS DE LABORATORIO

8.2.1 Disección

Primero se procedió a codificar todas las estaciones e individuos. Después se prosiguió con el proceso de disección para el cual, se dispuso cada caracol bajo el estéreo-microscopio y se le retiró cuidadosamente la concha procurando que el espécimen saliera completo. Luego, se removía el pie con delicadeza para evitar contaminaciones, este se limpiaba con alcohol al 96% y se disponía en un vial de 1.5 mL con etanol absoluto. Finalmente, el tejido se congelaba a -20°C para la posterior extracción de ADN. Para cada individuo se utilizó material nuevo y estéril y las cajas de Petri se lavaban con agua y jabón, se secaban y se flameaban luego de cada procedimiento.

8.2.2 Extracción de ADN

El ADN de los caracoles fue extraído a partir del tejido muscular del pie utilizando el protocolo CTAB modificado de Winnepeninckx *et al.* (1993), tal como se describe a continuación.

- 1) Inicialmente, el etanol absoluto era descartado de cada vial por decantación y el tejido era vigorosamente lavado con 1mL solución salina al 0.9%, luego se centrifugaba a 13000 rpm durante cinco minutos y se retiraba el sobrenadante vigilando que no se fuera a perder el tejido. Este procedimiento se repetía dos veces más con cada muestra para garantizar que el tejido estuviera libre de etanol y pudiera rehidratarse.
- 2) Posteriormente, el tejido era depositado un vial de 1.5 mL que contenía 300 µl de buffer CTAB (100mM Tris/HCl, 1.4M NaCl, 20mM EDTA, 2% CTAB, 2% PVP) precalentado por media hora a 60°C y 10 µl de proteinasa K (0.1 mg/mL). Esta mezcla era incubada a 60°C durante dos o tres horas y se agitaba cada 15 minutos. La incubación terminaba cuando, a partir de la inspección visual,

se determinaba que todo el tejido se había desintegrado y sólo era visible una fase líquida.

- 3) A continuación, se realizaba la remoción de las proteínas adicionando 300 µl de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) a cada vial y centrifugando a 13000 rpm por 10 minutos, por último la fase acuosa (que contenía el ADN) era transferida a un nuevo Eppendorf. Este proceso se repetía dos veces.
- 4) Después, el ADN se precipitaba usando 600 µl etanol absoluto frío y 10 µl de acetato de sodio 3M, se dejaba a -20°C por un día y luego se centrifugaba a 13000 rpm por 10 minutos. El pellet obtenido se lavaba con 1 ml de etanol al 70%, se centrifugaba a 13000 rpm por un minuto y se dejaba secar a temperatura ambiente por 24 horas.
- 5) Finalmente, el pellet era resuspendido en 50 µl de TE 1X, e incubado a 37°C por un día. El ADN presente en la muestra se cuantificaba usando un NanoDrop2000™ (Thermo Scientific) y era conservado a -20 °C.

En algunas muestras el tejido estaba muy deshidratado, por errores en su preservación, lo que dificultó el proceso de extracción de ADN. Estas tardaron más tiempo en desintegrarse por lo que hubo que dejarlas un día entero en incubación y se usó fenol/cloroformo para extraerlas.

8.2.3 Elección de ADNmt como marcador

El uso de secuencias de ADN mitocondrial, particularmente del gen COI, para evaluar la estructura genética poblacional en diferentes taxa es bastante frecuente. Esto se debe a que es fácil de amplificar (cebadores universales), hay múltiples copias en una célula y es altamente variable en poblaciones naturales debido a su elevada tasa de mutación, esto último permite evaluar la historia poblacional en cortos periodos de tiempo (Couceiro et al., 2007). Adicionalmente, la herencia del ADNmt es clonal (maternal) lo que implica que todo el genoma se comporta como un solo locus no recombinante, evoluciona de forma casi neutral y sirve como reloj molecular. No obstante, es de suma importancia tener cuidado en

el análisis de estas secuencias pues pueden amplificarse erróneamente genes mitocondriales que se han insertado en el genoma nuclear (numts) sesgando los resultados (Galtier et al., 2009).

Por todo lo anterior, el ADNmt constituye la opción más económica y conveniente para la exploración genética de especies acerca de las cuales no existe información, razón por la cual fue escogido para este estudio.

8.2.4 Amplificación del gen Citocromo Oxidasa I (COI)

La amplificación del ADN mitocondrial del gen que codifica para la subunidad I de la Citocromo Oxidasa, se llevó a cabo utilizando los cebadores NeviF 5'ATGCCAATGATGATTGGTGG3' y NeviR 5'ACAGGAAGAGAAAGCAACAAC3', derivados de secuencias COI conservadas, reportadas para *Neritina virginea*, *Neritina canalis* y *Neripteron dilatatus* (Crandall et al., 2010). El tamaño amplificado por estos cebadores es de 390 pb. Usando la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el ADNmt fue simétricamente amplificado en reacciones de 50 µl que contenían: 2 µl de ADN molde (50 ng/µl), 5 µl de Buffer 10X, 2.5 µl de solución de MgCl₂ (50 mM), 1 µl de dNTP's (10 mM), 1 µl de cada primer (10 mM), 0.3 µl de Taq polimerasa (5 U/µl) y 37.2 µl de ddH₂O. Las reacciones se corrieron en un termociclador Perkin-Elmer 9600 de acuerdo con los siguientes parámetros: primero 5 minutos de desnaturalización a 94°C; después un ciclo de 94°C por 30 segundos (desnaturalización), 57.2°C por 45 segundos (alineamiento) y 72°C por 60 segundos (extensión) este ciclo se repetía 30 veces y por último 10 minutos a 72°C.

Los productos de PCR fueron evaluados mediante electroforesis de una alícuota de 5 µl en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio, que se dejaron correr durante 20 minutos a 80 voltios. Los geles fueron visualizados y fotografiados con un fotodocumentador UV con el fin de escoger las muestras idóneas para la secuenciación.

8.2.5 Secuenciación

Las muestras que produjeron amplicones limpios y cuya banda tenía una buena intensidad fueron enviadas para su purificación y secuenciación a las instalaciones de MACROGEN™ en Corea.

8.3 ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.3.1 Edición de secuencias

Se utilizó el programa Bioedit v.7.1.7 (Tom Hall, 2011; disponible en <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>) para visualizar, editar y alinear las secuencias obtenidas para cada una de las muestras. Se descartaron del análisis las muestras cuya secuencia estuviera muy contaminada o fuera muy corta como para ser comparada con las demás. Además, se hizo una inspección visual exhaustiva para determinar los verdaderos polimorfismos en cada secuencia y se editaron aquellos puntos que correspondían a errores en la secuenciación.

8.3.2 Estimativos de diversidad y estructura poblacional

Las frecuencias haplotípicas, la diversidad haplotípica, la diversidad nucleotídica, el espectro de frecuencias alélicas y la diferenciación entre sitios basados en estimadores F_{st} fueron valorados usando los programas DNAsp y Arlequín (Bandelt et al., 1999; Excoffier et al., 2005; Librado y Rozas, 2009) (Tabla 1). Adicionalmente, el *software* Network (<http://fluxus-engineering.com/>) se usó para construir las redes haplotípicas con el fin de mostrar la relación genealógica y evolutiva entre los haplotipos y su distribución geográfica.

Por otra parte, los estimativos de diversidad (diversidad nucleotídica, diversidad haplotípica y frecuencia de haplotipos) fueron comparados teniendo en cuenta la morfología de las bahías (bahías abiertas y cerradas) y su localización geográfica (poblaciones al norte y al sur del delta del río Atrato).

Tabla 2. Estimadores utilizados para evaluar la composición y estructura genética de *Neritina virginea*.

Estimadores	Símbolo
Número de sitios segregantes	S
Número de haplotipos	N_h
Diversidad haplotípica	h
Diversidad nucleotídica	π
Estructuración genética	F_{st}

8.3.3 Aislamiento por distancia

Según el modelo de aislamiento por distancia, se espera encontrar mayor divergencia entre las poblaciones cuando éstas están separadas por grandes distancias geográficas (Wright, 1943). Con el fin de evaluar si este fenómeno se presentaba en las poblaciones de *N. virginea* del delta del río Atrato, se graficaron las distancias genéticas (Dxy) y las distancias geográficas en Excel, estas últimas tomadas como la distancia lineal entre dos puntos de muestreo, y se midió la confiabilidad del resultado usando el procedimiento de permutación de Mantel como se encuentra implementado en Arlequín v.3.1 (Mantel, 1967).

8.3.4 Análisis estadístico

La estructura genética poblacional se examinó con Arlequín v.3.1 usando un análisis molecular de varianza AMOVA de acuerdo con la jerarquía de muestreo: entre bahías, entre poblaciones dentro de las bahías y dentro de cada población.

9. RESULTADOS

9.1 DIVERSIDAD GENÉTICA Y DIFERENCIACIÓN ENTRE GRUPOS

9.1.1 Índices de diversidad

Inicialmente, al realizar la inspección visual de las secuencias en el programa Bioedit fue posible detectar dos secuencias altamente divergentes dentro del conjunto de datos, estas diferían ampliamente de las demás y pertenecían a los puntos de muestreo de Bahía Candelaria (BCAIV-15) y Bahía Marirríó (BMI-13). Por este motivo, se decidió realizar dos tipos de análisis: el primero donde se incluyeron dichas secuencias y el segundo donde se excluyeron, lo anterior con el fin de evaluar si los índices de diversidad se alteraban de forma significativa.

En el primer análisis (N=173), se encontraron un total de 33 haplotipos lo que se reflejó en una diversidad haplotípica intermedia (0.51), la diversidad nucleotídica fue baja (0.00415) y sólo se hallaron en promedio 1.173 diferencias pareadas entre las secuencias, lo que indica una gran similitud entre estas (Tabla 3).

Posteriormente, las secuencias se agruparon por estación de muestreo y cada grupo fue analizado individualmente. En Bahía Candelaria y Bahía Marirríó fue donde se presentó la mayor diversidad haplotípica (0.676 y 0.632 respectivamente) y nucleotídica (0.00845 y 0.00903 respectivamente). Aunque la diversidad haplotípica (0.681) fue comparativamente alta en Bahía Burrera, la diversidad nucleotídica fue mucho menor (0.00299) con relación a Bahía Candelaria y Bahía Marirríó.

Es importante destacar que el menor número de haplotipos se halló en Bahía Cocogrande lo que se refleja en una muy baja diversidad haplotípica y también presentó el valor más bajo de π . En la Ensenada de Rionegro, ubicada al nororiente del golfo de Urabá, solo se encontró un haplotipo. No obstante, esto se

debe al bajo tamaño muestral obtenido para esta zona (N=3), por consiguiente ésta región no se tuvo en cuenta para análisis posteriores.

En el segundo análisis (N=171), se observó que al excluir las secuencias polimórficas pertenecientes a las estaciones de muestreo de Bahía Candelaria y Marirrí, la diversidad haplotípica (0.498) disminuyó levemente ya que cada secuencia constituía un haplotipo. Adicionalmente, la diversidad nucleotídica (0.00229), el número de diferencias pareadas (0.647) y el número de sitios segregantes (28) se redujeron considerablemente con respecto al primer análisis, debido a que estas secuencias presentaban un gran número de polimorfismos que las diferenciaban del resto de secuencias dentro del grupo. Un patrón similar se observó al evaluar los cambios en los índices de diversidad dentro de las estaciones de muestreo de Bahía Candelaria y Marirrí.

Por otra parte, al realizar un BLAST de las secuencias divergentes de Bahía Candelaria (BCAIV-15) y Marirrí (BMI-13) se encontró que éstas compartían una identidad del 99% con secuencias de *Neritina virginea* de Puerto Rico (FJ348973.1) y la región de Bocas del Toro ubicada en Panamá (EU732370.1). Para evaluar que tanto divergían éstas secuencias dentro del Golfo, se descargaron secuencias del NCBI pertenecientes a *N. virginea* de Puerto Rico y Panamá y se graficaron usando *Network*. Se observaron claramente dos agrupaciones, una que contenía las secuencias del golfo de Urabá (exceptuando BCAIV-15 y BMI-13) y otra en las que se agrupaban las secuencias de Puerto Rico y Panamá (Figura 8).

Finalmente, en la última fila de la tabla 3 se puede observar una comparación realizada entre una secuencia perteneciente al haplotipo 1 (BBI-1) y la secuencia más idéntica (93%) de la especie (*Neritina virginea* voucher: número de acceso FJ977766.1) encontrada mediante BLAST en el GenBank. Se hallaron 25 sitios segregantes entre las secuencias lo que indica que hay una divergencia significativa entre estas.

Figura 8. Red haplotípica considerado secuencias de Urabá, Puerto Rico y Panamá.

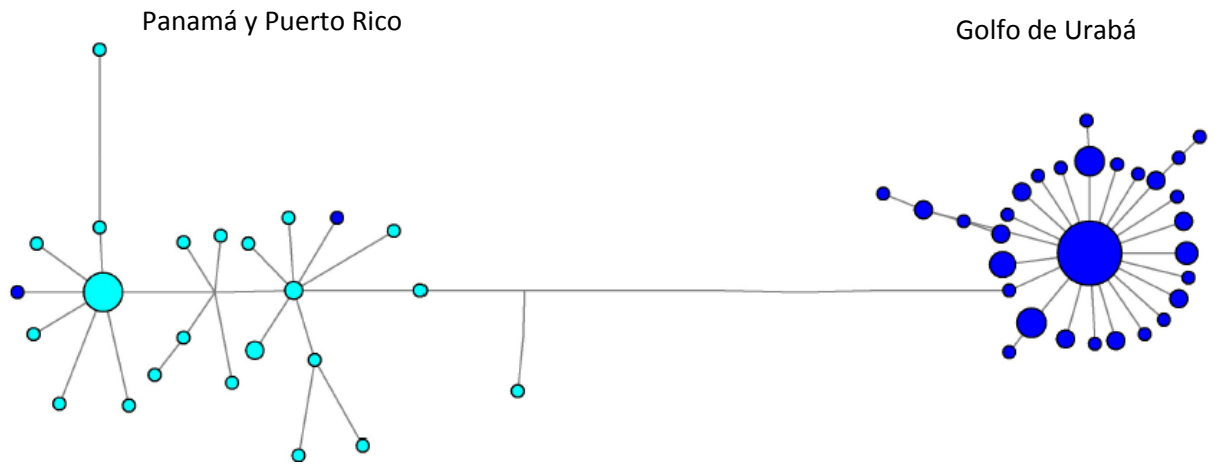


Tabla 3. Índices de diversidad genética.

N : tamaño de muestra, N_s : número de sitios, N_h : número de haplotipos, h : diversidad haplotípica, S : número de sitios segregantes, π : diversidad nucleotídica, k : número de diferencias pareadas, Dh_s : diversidad por secuencia, DE: desviación estándar.*Para estas localidades existen dos valores: el primero incluyendo las secuencias polimórficas y el segundo excluyéndolas.

	N	N_s	N_h	$h \pm DE$	S	$\Theta\pi$	$\Theta\pi \times 1000$	$Dh_s \pm DE$	$K \pm DE$
Delta	173	283	33	0.510± 0.048	45	0.00415 ± 0.00131	4.15		1.173 ± 0,758
Delta excepto (BCAIV-15 y BMI-13)	171	283	31	0.498 ± 0.048	28	0.00229 ± 0.00028	2.29		0.647 ± 0,505
Punta Yerbasal	13	304	4	0.526 ± 0.153	3	0.00194 ± 0.00066	1.94	0.5256 ± 0.1527	0.590 ± 0,504
Bahía El Roto	41	327	14	0.630 ± 0.088	14	0.00294 ± 0.00059	2.94	0.5366 ± 0.0951	0.961 ± 0.669
Bahía Candelaria*	33	283	15	0.676 ± 0.095	32	0.00845 ± 0.00463	8.45	0.6761 ± 0.0947	2.390 ± 1.333
	32	283	14	0.655 ± 0.098	14	0.00351 ± 0,00076	3.51	0.6552 ± 0.0985	0.992 ± 0.688
Bahía Cocogrande	19	315	5	0.462 ± 0.136	4	0.00163 ± 0.00055	1.63	0.2982 ± 0.1329	0.515 ± 0.452
Bahía Burrera	14	327	6	0.681 ± 0.132	6	0.00299 ± 0.00087	2.99	0.5934 ± 0.1438	0.978 ± 0.704
Bahía La Paila	27	310	10	0.564 ± 0.115	9	0.00215 ± 0.00054	2.15	0.4587 ± 0.1194	0.667 ± 0.528
Bahía Marirrio*	23	319	8	0.632 ± 0.113	26	0.00903 ± 0.00611	9.03	0.4585 ± 0.1259	2.881 ± 1.571
	22	319	7	0.597 ± 0.118	6	0.00516 ± 0.00056	5.16	0.4069 ± 0.1278	0.710 ± 0.554
Ensenada de Rionegro	3	328	1	0	0	0	0	0.0000	0
Haplotipo 1 vs <i>N. virginea</i> voucher	2	328	2	1	25	0.07622	76.22		25

De otro lado, los cambios en el crecimiento poblacional se evaluaron comparando la forma de la distribución de disparidad observada con la de la distribución esperada bajo un modelo de expansión poblacional empleando la suma de las desviaciones al cuadrado (SSD) como se encuentra implementado en Arlequín v.3.1. Fue evidente que las poblaciones de *Neritina* se ajustan muy bien a un modelo de expansión poblacional reciente, cuya curva de distribución de disparidad es típicamente unimodal, ya que no hubo diferencias significativas entre la forma de la distribución observada y la esperada ($p > 0.05$).

En las figuras 9 y 11 puede notarse que la inclusión de las secuencias polimórficas produjo una pequeña curva al final de la distribución de disparidad y se observó un mayor número de diferencias pareadas entre las secuencias, sin embargo éste hecho no alteró significativamente la forma de la distribución predominantemente unimodal. Adicionalmente, en las gráficas 10 y 12 puede observarse la distribución de las frecuencias alélicas basada en el número de sitios segregantes allí se hizo evidente la alta frecuencia de haplotipos con pocos cambios y la baja frecuencia de haplotipos con más de tres cambios.

Figura 9. Distribución de diferencias pareadas incluyendo las secuencias divergentes.

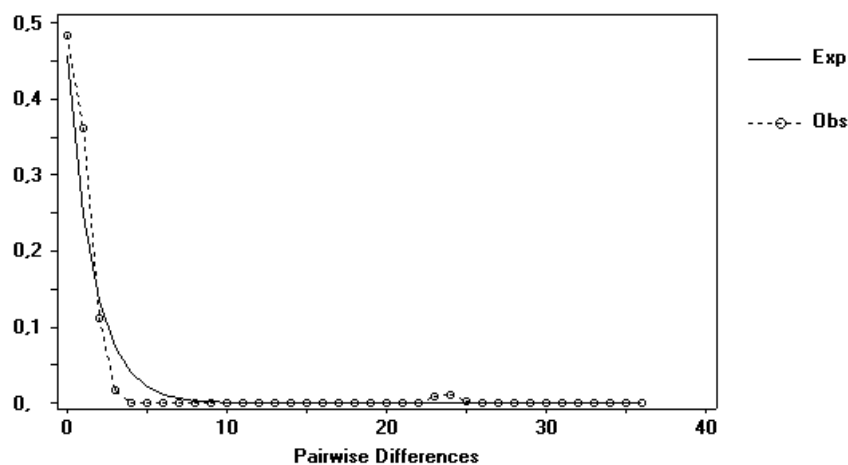


Figura 10. Distribución de frecuencias alélicas (sitios segregantes) incluyendo las secuencias divergentes.

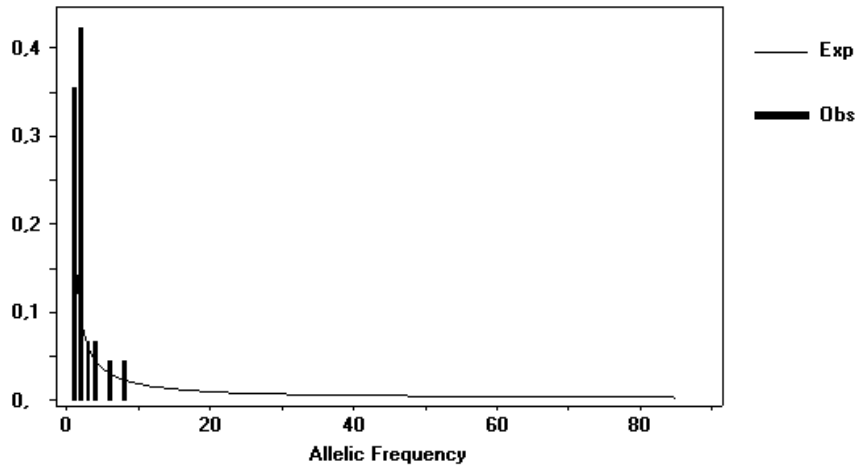


Figura 11. Distribución de diferencias pareadas excluyendo las secuencias divergentes.

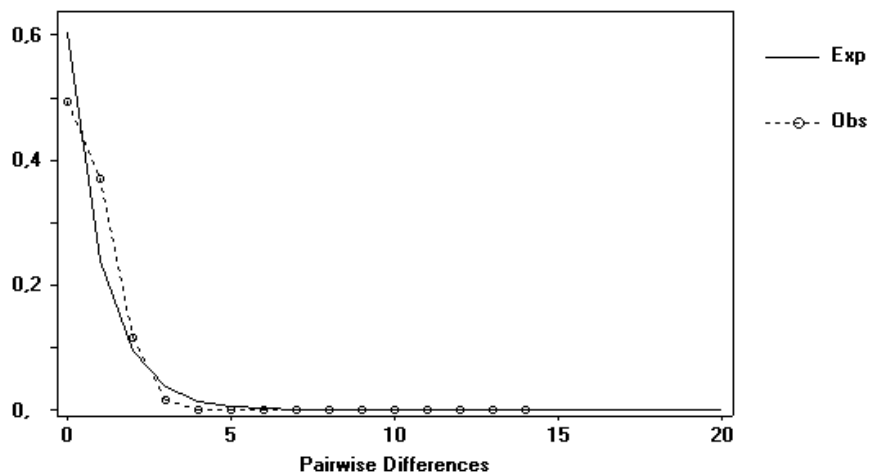
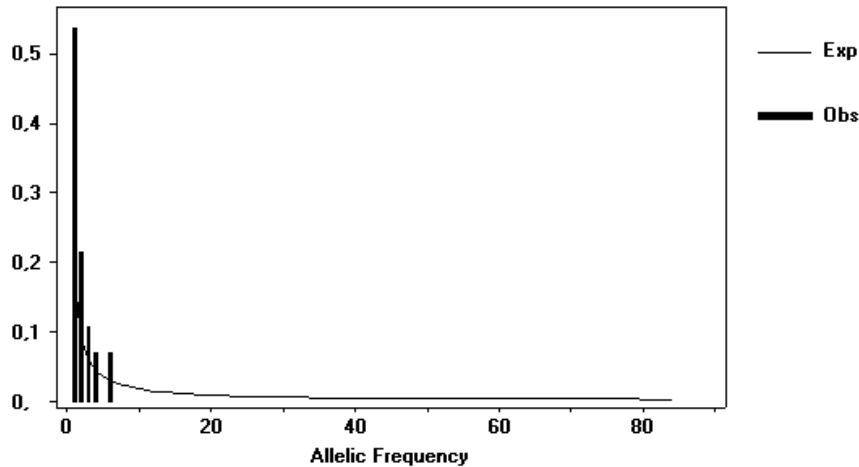


Figura 12. Distribución de frecuencias alélicas (sitios segregantes) excluyendo las secuencias divergentes.



9.1.2 Diferenciación entre grupos

En la tabla 4 es posible observar que todos los sitios de muestreo presentaron por lo menos un haplotipo en común con otro(s) sitios y en algunas localidades se hallaron hasta cinco haplotipos compartidos. También, vale la pena destacar que estos haplotipos se encontraron con altas frecuencias relativas (57.6 – 89.5%) en las poblaciones que los compartían, lo que indica una baja frecuencia relativa de haplotipos únicos en cada uno de los lugares muestreados. Adicionalmente, no se observó ninguna relación entre la distancia geográfica y el número de haplotipos compartidos entre las poblaciones, ya que algunas poblaciones que se encontraban a distancias relativamente largas como es el caso de Bahía Marirrí y El Roto (21.1 Km), compartieron tres haplotipos, mientras que lugares más cercanos como Bahía Burrera y Bahía Cocogrande a tan sólo 3.2 Km de distancia, sólo compartieron uno.

Por otra parte, los análisis de estructuración poblacional, teniendo en cuenta el estimativo F_{st} y el test exacto de diferenciación poblacional (Raymond y Rousset, 1995) mostraron que no hay diferencias significativas entre los grupos, lo que

sugiere la existencia de una población con alto flujo génico (Anexo 1). No obstante, se observa que al emplear la distancia genética (Dxy) como una medida de diferenciación entre poblaciones, unas de ellas resultan ser menos parecidas entre sí, como es el caso de Bahía Candelaria y Marirrí al incluir las secuencias divergentes (Tabla 4) o de Bahía Burrera y Bahía Candelaria al excluir dichas secuencias (Tabla 5).

Tabla 4. Diferenciación entre grupos incluyendo secuencias divergentes.

(*Distancias D (Km) entre las poblaciones son lineares, **Ninguna comparación fue significativamente diferente).

Población 1	Población 2	Fst	Dxy	Dxy * 10000	D (Km)	Nh compartidos (Frecuencias%)
Bahía Cocogrande	Bahía La Paila	-0.00943	0.00146	14.6	6.3	2 (89.5 – 77.8)
Bahía Cocogrande	Bahía Yerbasal	0.02754	0.00165	16.5	19.9	1 (84.2 - 69.2)
Bahía Cocogrande	Bahía El Roto	0.00931	0.00185	18.5	17.9	1 (84.2 - 68.3)
Bahía Yerbasal	Bahía La Paila	0.02261	0.002	20.0	24.1	1 (69.2 - 74.1)
Bahía Burrera	Bahía Cocogrande	0.01874	0.00207	20.7	3.2	1 (64.3 - 84.2)
Bahía El Roto	Bahía La Paila	-0.0038	0.00218	21.8	22.1	2 (73.2 – 77.8)
Bahía Burrera	Bahía La Paila	-0.00727	0.00237	23.7	4.0	2 (78.6 -77.8)
Bahía Yerbasal	Bahía El Roto	0.02082	0.00237	23.7	4.5	2 (70.9 – 70.7)
Bahía Burrera	Bahía Yerbasal	0.03234	0.0026	26.0	21.5	1 (64.3 - 69.2)
Bahía Burrera	Bahía El Roto	0.0113	0.00278	27.8	19.1	1 (64.3 - 68.3)
Bahía Candelaria	Bahía Cocogrande	0.01014	0.00483	48.3	12.3	1 (57.6 - 84.2)
Bahía Cocogrande	Bahía Marirrí	0.01581	0.00486	48.6	11.5	1 (84.2 - 73.9)
Bahía Candelaria	Bahía La Paila	0.00169	0.00515	51.5	14.5	3 (63.7 – 81.5)
Bahía Marirrí	Bahía La Paila	0.00276	0.00516	51.6	7.8	3 (82.6 – 84.5)
Bahía Marirrí	Bahía Yerbasal	-0.00375	0.00525	52.5	24.6	2 (82.6 – 70.7)
Bahía Candelaria	Bahía Yerbasal	-0.00186	0.00526	52.6	8.8	3 (63.7 – 78.4)
Bahía Candelaria	Bahía El Roto	0.00268	0.00551	55.1	6.1	5 (69.7 – 80.5)
Bahía Marirrí	Bahía El Roto	0.00346	0.00552	55.2	21.1	3 (82.6 – 75.6)
Bahía Burrera	Bahía Candelaria	-0.00682	0.00566	56.6	13.5	3 (85.7 – 63.7)
Bahía Burrera	Bahía Marirrí	0.00104	0.00571	57.1	8.9	1 (64.3 - 73.9)
Bahía Candelaria	Bahía Marirrí	-0.0246	0.00824	82.4	16.0	3 (63.7- 86.9)

Tabla 5. Diferenciación entre grupos excluyendo secuencias divergentes.

(**Ninguna comparación fue significativamente diferente).

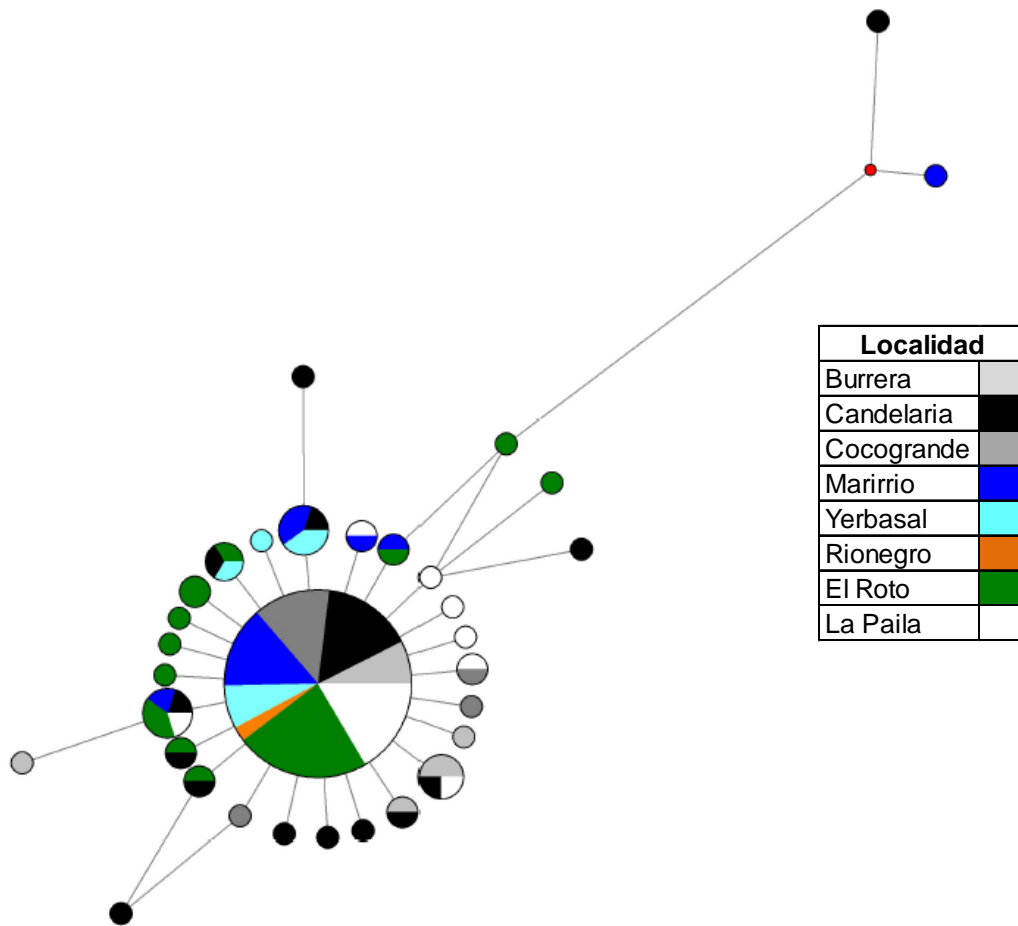
Población 1	Población 2	Fst	Dxy	Dxy* 10000	D (Km)	Nh compartidos (frecuencia %)
Bahía Cocogrande	Bahía Marirrio	0.01124	0.00136	13.6	11.5	1 (84.2 - 77.3)
Bahía Cocogrande	Bahía La Paila	-0.00943	0.00146	14.6	6.3	2 (89.5 - 77.8)
Bahía Cocogrande	Bahía Yerbasal	0.02754	0.00165	16.5	19.9	1 (84.2 - 69.2)
Bahía Marirrio	Bahía La Paila	-0.00501	0.0017	17	7.8	3 (86.4 - 81.5)
Bahía Marirrio	Bahía Yerbasal	-0.02135	0.00179	17.9	24.6	2 (86.4 - 70.7)
Bahía Cocogrande	Bahía El Roto	0.00931	0.00185	18.5	17.9	1 (84.2 - 68.3)
Bahía Yerbasal	Bahía La Paila	0.02261	0.002	20	24.1	1 (69.2 - 74.1)
Bahía Marirrio	Bahía El Roto	0.00058	0.00206	20.6	21.1	3 (86.4 - 75.6)
Bahía Burrera	Bahía Cocogrande	0.01874	0.00207	20.7	3.2	1 (64.3 - 84.2)
Bahía El Roto	Bahía La Paila	-0.0038	0.00218	21.8	22.1	2 (73.2 - 77.8)
Bahía Burrera	Bahía Marirrio	0.01359	0.00229	22.9	8.9	1 (64.3 - 77.3)
Bahía Candelaria	Bahía Cocogrande	0.00113	0.00231	23.1	12.3	1 (59.4 - 84.2)
Bahía Burrera	Bahía La Paila	-0.00727	0.00237	23.7	4	2 (78.6 - 77.8)
Bahía Yerbasal	Bahía El Roto	0.02082	0.00237	23.7	4.5	2 (77.9 - 70.7)
Bahía Candelaria	Bahía Marirrio	-0.00819	0.00252	25.2	16	3 (65.6 - 90.9)
Bahía Burrera	Bahía Yerbasal	0.03234	0.0026	26	21.5	1 (64.3 - 69.2)
Bahía Candelaria	Bahía La Paila	-0.00387	0.00266	26.6	14.5	3 (65.6 - 81.5)
Bahía Candelaria	Bahía Yerbasal	-0.00917	0.00277	27.7	8.8	3 (65.6 - 78.4)
Bahía Burrera	Bahía El Roto	0.0113	0.00278	27.8	19.1	1 (64.3 - 68.3)
Bahía Candelaria	Bahía El Roto	-0.00385	0.00302	30.2	6.1	5 (71.9 - 81.5)
Bahía Burrera	Bahía Candelaria	-0.00311	0.00322	32.2	13.5	3 (72.9 - 65.6)

9.1.3 Red haplotípica

En la red haplotípica que se muestra a continuación es posible ver las relaciones que existen entre los haplotipos y su distribución geográfica. De 173 individuos secuenciados se identificaron en total 33 haplotipos de los cuales 22 estuvieron representados sólo por un individuo (*singletons*) (Tabla 3). Es importante destacar la forma de estrella que mostró la red haplotípica, con un haplotipo central de mayor frecuencia (Hap1) rodeado por varios haplotipos de menor frecuencia ubicados a uno o pocos pasos mutacionales de éste, lo que sugiere una

expansión poblacional en donde las variantes “raras” son abundantes pero están en muy baja frecuencia (Figura 12). Además el haplotipo uno estuvo distribuido en todos los sitios de muestreo. Por otra parte, se observa que los haplotipos divergentes encontrados en Bahía Candelaria y Bahía Marirrio se ubican a varios pasos mutacionales del haplotipo central.

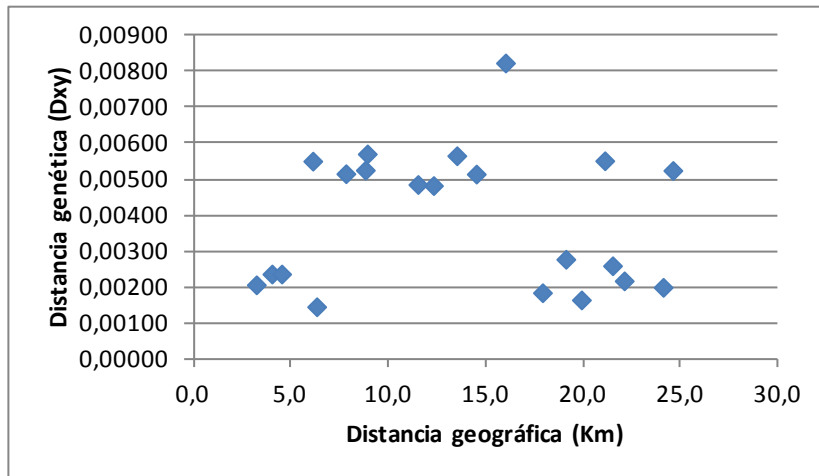
Figura 13. Red haplotípica incluyendo las secuencias polimórficas



9.2 AISLAMIENTO POR DISTANCIA

El test de Mantel, no mostró ninguna regresión (CR: 0.0003 y 0.0000) ni correlación (CC: 0.1192 y 0.1392) significativa ($p= 0.271$ y 0.225) entre las matrices de distancia genética, usando los estimadores F_{st} y D_{xy} respectivamente, y la matriz de distancia geográfica. En otras palabras, no se encontró ningún tipo de aislamiento por distancia entre las poblaciones evaluadas durante este análisis.

Figura 14. Test de Mantel. Distancia geográfica vs. distancia genética de poblaciones de *N. virginea* del delta del río Atrato.



9.3 AMOVA

El análisis molecular de varianza de acuerdo con la jerarquía de muestreo: entre bahías, entre poblaciones dentro de las bahías y dentro de cada población, mostró que no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las distintas agrupaciones (Tablas 6-9).

Tabla 6. Análisis molecular de varianza tomando como grupos las bahías del norte (Yerbasal, El Roto y Candelaria) versus las del sur (Cocogrande, Burrera, La Paila y Marirrio).

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de Variación
Entre bahías	1	0.361	-0.00273 Va	-0.46
Entre poblaciones dentro de bahías	5	2.968	-0.00021 Vb	-0.03
Dentro de poblaciones	163	97.536	0.59838 Vc	100.49
Total	169	100.865	0.59544	

Tabla 7. Índices de fijación y valores de significancia.

Índices de fijación	Valor	p*
FSC	-0.00034	0.37248 ± 0.00499
FST	-0.00493	0.57277 ± 0.00489
FCT	-0.00459	0.76634 ± 0.00430

*10000 permutaciones

Tabla 8. Análisis molecular de varianza tomando como grupos las bahías abiertas (Yerbasal, El Roto, Candelaria y Marirrí) versus las cerradas (Cocogrande, Burrera y La Paila).

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de Variación
Entre grupos	1	0.762	0.00327 Va	0.55
Entre grupos dentro de poblaciones	5	2.567	-0.00363 Vb	-0.61
Dentro de poblaciones	163	97.536	0.59838 Vc	100.06
Total	169	100.865	0.59802	

Tabla 9. Índices de fijación y valores de significancia.

Índices de fijación	Valor	p*
FSC	-0.00610	0.56950 ± 0.00413
FST	-0.00060	0.57307 ± 0.00561
FCT	0.00547	0.28168 ± 0.00434

***10000 permutaciones**

10. DISCUSIÓN

Índices de diversidad

Los índices de diversidad molecular (Tabla 3) encontrados para *N. virginea*, usando secuencias de ADNmt del gen COI, concuerdan con los reportados en la literatura para esta y otras especies de la familia Neritidae (Crandall et al., 2010; Page et al., 2012; Cook et al., 2009; Bebler y Foltz, 2004). Estudios recientes realizados por Page et al. (2012) con *N. virginea* del Caribe y por Crandall et al. (2010) con *Neritina canalis* y *Neripteron dilatatus* del Pacífico central y oriental, reportaron para la misma región mitocondrial diversidades haplotípicas altas ($h \geq 0.910$ y 0.871 respectivamente) y diversidades nucleotídicas bajas ($\pi = 0.010 - 0.011$ y $0.004 - 0.013$ respectivamente). No obstante, en este estudio los valores de π estuvieron más próximos al límite inferior reportado por Crandall et al. (2010) y se encontraron valores más bajos de k que los hallados por Page et al. (2012) y por Cook et al. (2009). La baja diversidad nucleotídica hallada puede ser consecuencia de eventos demográficos históricos que han tenido lugar en las poblaciones, como por ejemplo un eve

nto fundador reciente (Harpending y Batzer, 1998; Rogers y Harpending, 1992). Es posible que los organismos fundadores provengan de las poblaciones de Puerto Rico y Panamá, sin embargo para determinar esto habría que ampliar el muestreo de secuencias en estas regiones e involucrar la dimensión temporal en el análisis.

La idea de una expansión poblacional reciente parece probable por los resultados obtenidos en las gráficas de la distribución de disparidad y el espectro de frecuencias alélicas (sitios segregantes) (Fig. 9 – 12). En una población que ha experimentado una expansión se observan mutaciones representadas por una o pocas copias, es decir, muchos más alelos “únicos” y de baja frecuencia que los esperados en poblaciones que han mantenido un tamaño constante (Harpending y Batzer, 1998). Por ende, es característico encontrar una distribución de diferencias pareadas de tipo unimodal, este hecho puede observarse en las gráficas 9 y 11.

Adicionalmente, en la red haplotípica (Fig. 13) se observa una imagen típica de una expansión poblacional en donde a partir de un haplotipo más frecuente (ancestral) se han originado otros haplotipos situados a pocos pasos mutacionales. Asimismo las pruebas de neutralidad como la D de Tajima ($D = -2.55$ $p < 0.001$) y la Fu F de Fu y Li ($FuF = -2.83$ $p < 0.05$) apoyan la existencia de éste proceso, estos hallazgos se han descrito para *N. virginea* y otros nerítidos (Myers et al., 2000; Crandall, 1999; Cook et al., 2009). Las pruebas de neutralidad con valores negativos pueden indicar igualmente eventos de selección purificadora, no obstante este no parece ser el escenario de las poblaciones de *N. virginea* del Golfo pues el análisis de las sustituciones sinónimas y no sinónimas reveló que para esta región génica sólo se encontraron sustituciones sinónimas.

Por otra parte, los valores de π y k , mencionados anteriormente, disminuyeron considerablemente cuando se excluyeron las secuencias divergentes de Bahía Candelaria y Bahía Marirríó, las cuales aunque se encontraban en muy baja frecuencia en la población representando tan sólo el 1% (proporción: 2/173), eran las que incrementaban el número de diferencias pareadas, de sitios segregantes y la diversidad nucleotídica general (Tabla 3). Un análisis posterior con Blast reveló que estas dos secuencias compartían una alta identidad (99%) con secuencias obtenidas de individuos pertenecientes a Panamá y Puerto Rico, mientras que la identidad del resto de secuencias del conjunto de datos fue más baja (93%).

El hecho de que la mayoría de secuencias comparta una más baja identidad con las secuencias de Panamá y Puerto Rico, sugiere que las poblaciones de *N. virginea* del golfo de Urabá se encuentran aisladas en alguna medida de las poblaciones de Panamá y Puerto Rico (Figura 8), lo que revela la existencia de una posible frontera de la super-población considerada por Page et al. (2012), además refuta las apreciaciones hechas por Ortiz y Blanco (2012) de que las poblaciones de *N. virginea* de la Ecoregión del Darién pudieran estar más relacionadas con las poblaciones de Panamá que con aquellas del Caribe colombiano sur. No obstante, este aislamiento no es completo pues como ya se

mencionó, se encontraron dos haplotipos que mostraron alta identidad con secuencias de Panamá y Puerto Rico dentro del Golfo. Esto indica que algunas larvas planctotróficas logran de cierta forma recorrer los ~1600 km de mar abierto existentes entre Puerto Rico y el golfo de Urabá o los casi 600 Km entre Panamá y el Golfo, superando las barreras fisiológicas, geomorfológicas, oceanográficas y climáticas. Luego ingresan y se establecen dentro el Golfo, razón por la cual estos haplotipos “foráneos” se encuentran en la región, aunque en baja frecuencia.

Los dispersores pasivos (larvas flotantes) generalmente tienden a viajar mayores distancias que los activos (nadadores) (Cowen et al., 2006). El desplazamiento de estas larvas puede ser mediado por distintos fenómenos entre ellos condiciones oceanográficas importantes como es el caso de las corrientes predominantes en el mar Caribe (Scheltema, 1971; Okubo, 1980). La corriente Caribe en dirección sur-norte y orientada hacia el oeste, es una de las más importantes pero debido a la gran magnitud del flujo y su dirección predominante hace poco probable una dispersión larval desde Puerto Rico hacia el golfo de Urabá (Alvera-Azcárate et al., 2009). De otro lado, el giro ciclónico de Panamá-Colombia da lugar a la contracorriente del Darién que va en dirección opuesta a la corriente Caribe y bordea la margen continental panameña hasta alcanzar Venezuela (Bernal y Poveda, 2006). Según Molina et al. (1992), un ramal de esta corriente ingresa al Golfo por el costado occidental durante la época húmeda en la que predominan los vientos Alisios del sur (INVEMAR y CORPOURABÁ, 2003). Este podría ser entonces, el medio más probable por el cual las larvas de *N. virginea* son transportadas hasta el Golfo. Es de resaltar, que la baja frecuencia en la que se encuentran los haplotipos puede estar indicando una barrera al flujo génico constante entre las poblaciones de Panamá y Urabá y por consiguiente contradiciendo las apreciaciones de Molina et al. (1992) de un flujo continuo de un ramal de la contracorriente del Darién al interior del Golfo. Si esta apreciación fuera cierta, se esperaría hallar una composición genética similar entre ambas poblaciones, pues 600 Km no es una distancia considerable teniendo en cuenta la característica

teleplánica de las larvas de *N. virginea* (Page et al., 2012). Una explicación razonable sería que esos haplotipos llegaron al Golfo como consecuencia de un evento oceanográfico extremo (de alta magnitud y baja frecuencia), en donde la fuerza de la corriente y su velocidad le permitieron a las larvas atravesar la “barrera”, que podría ser el gran flujo de agua dulce exportado por el río Atrato. No obstante, para tener claridad sobre estos aspectos hace falta: investigar con mayor grado de detalle la influencia que tiene la contracorriente de Panamá en el golfo de Urabá y evaluar la composición y estructura genética de otras poblaciones de *N. virginea* situadas a lo largo de la costa Caribe colombiana donde se sospeche que ésta corriente tiene un mayor predominio para compararlas con las poblaciones de Panamá y del Golfo.

Diferenciación entre grupos

De acuerdo con Gillespie et al. (2012) la capacidad de divergencia entre dos poblaciones depende del grado de conectividad que exista entre ellas que a su vez está determinado por la capacidad de dispersión de la especie y la distancia geográfica que separa a las poblaciones. Tal como lo han mencionado diversos autores, *Neritina virginea* tiene una gran capacidad de dispersión debido a su ciclo anfídromo y la tenencia de una larva pelágica de extensa duración (>50 días) (Crandall, 1999; Crandall et al., 2010; Kano, 2006). Con respecto a la distancia geográfica que separa a las poblaciones del delta, se encontró que la mayor fue de alrededor de 25 Km, la cual no es mucha comparada con los 140 Km en los que Myers et al., (2000) no encontraron estructura genética significativa entre poblaciones de *Clithon spinosus* localizadas en diferentes islas de la polinesia francesa o los ~ 2000 Km entre las poblaciones de *N. virginea* de Puerto Rico y Panamá estudiadas por Page et al. (2012), entre las que tampoco se halló estructuración genética. A pesar de estar situadas a poca distancia, se sospechaba que no existía conectividad entre las poblaciones del delta o era lo suficientemente baja como para que estas se diferenciaron genéticamente. Lo anterior debido a que la pluma del río Atrato podría estar funcionando como una

barrera entre las poblaciones del norte y del sur, al igual que la morfología cerrada o abierta de las bahías que permitía o no el ingreso de larvas. No obstante, los análisis de estructuración poblacional mostraron un panorama diferente, señalando que en el golfo de Urabá no existen poblaciones diferenciadas sino que allí *N. virginea* se comporta como una gran población con alto flujo génico o por lo menos el suficiente para homogeneizar la composición genética de las poblaciones, como lo demuestran los valores de F_{st} .

Este resultado no es tan sorprendente pues diversos autores que han investigado la estructura genética de la fauna anfídroma (moluscos, peces y camarones) del Pacífico y del Atlántico en diferentes escalas geográficas y empleando distintos marcadores, coinciden en que existe un alto flujo génico entre las poblaciones de estos organismos (gasterópodos: Hodges y Allendorf, 1998; Kyle y Boulding, 2000; Myers *et al.*, 2000; Lee y Boulding, 2009; Crandall *et al.*, 2010, peces: Allibone y Wallis, 1993; Chubb *et al.*, 1998; Berrebi *et al.*, 2005 y camarones: Bebler y Foltz, 2004; Valles-Jimenez *et al.*, 2005; Cook *et al.*, 2008, 2010; Page *et al.*, 2008).

El único estudio reportado en el que se encontró estructuración genética significativa para una especie anfídroma fue el de Crandall *et al.* (2010). Los autores indicaron que las poblaciones de *Neritina canalís* del Pacífico occidental y central (~2000 Km de distancia) presentaron estructuración genética importante. Es de notar que la capacidad de dispersión de *N. virginea* se asemeja a la de especies completamente marinas (Palumbi *et al.*, 1997; Crandall *et al.*, 2008).

Lo que resulta realmente interesante, es la contribución de estos resultados para lograr un mejor entendimiento de los patrones de circulación en el Golfo. Es evidente que las aguas superficiales del Golfo se mezclan en gran medida intra-anualmente, ya que en regiones tan confinadas como Bahía Marirríó se encuentran los mismos haplotipos que en el resto del delta. Esto probablemente ocurra en la época seca donde por acción de los vientos Alisios del norte, la pluma turbia del Atrato se desplaza hacia el sur cargando consigo las larvas provenientes

de distintas localidades del Golfo (asumiendo que estas se comportan igual que los sedimentos finos) (Montoya, 2010) y homogenizando de esta forma la composición genética regional.

Por otra parte, y acorde con los resultados de estructuración poblacional, no se encontró ningún aislamiento por distancia entre las poblaciones de *N. virginea* del delta del río Atrato (Fig.13); tampoco se evidenciaron diferencias significativas entre ninguna de las jerarquías evaluadas en el AMOVA, aspectos que demuestran la existencia de una sola población.

Si bien estos resultados pueden deberse a la gran capacidad de dispersión de la especie, también pueden ser producto del tipo de marcador molecular utilizado (ADNmt) que puede no funcionar muy bien describiendo patrones geográficos a escalas muy finas, pues unos pocos migrantes (bajo flujo génico) pueden conllevar a la homogenización de las poblaciones (Galtier et al., 2009). Sin embargo, estudios con otros marcadores como aloenzimas (Hodges and Allendorf, 1998) y microsatelites (Schmidt et al., 2011) demuestran la existencia de alto flujo génico en especies anfídromas y por consiguiente han llegado a la misma conclusión de la ausencia de estructuración genética poblacional.

Finalmente, la anfídromía es el rasgo que puede explicar la baja estructuración entre las diferentes localidades estudiadas, sumado a la gran mezcla de las aguas superficiales que se produce en el golfo de Urabá según la estación climática. Ahora bien, esta apreciación debe ser tomada con cautela al momento de generalizarla a otros organismos con ciclo de vida anfídromo, debido a amplia variación en las historias de vida que estos pueden presentar como: retrasos en la metamorfosis (Crandall et al., 2010), corta duración de la larva pelágica (Weersing y Toonen, 2009), comportamiento larval, entre otros. Por estos motivos, hay autores que han encontrado excepciones a la regla que dice que las poblaciones de especies con larvas pelágicas de larga duración no están estructuradas genéticamente en grandes escalas geográficas (Crandall et al., 2010; Baums et

al., 2006; Tsukagoshi et al., 2011). Además, al momento de estudiar especies anfídromas con larvas que son dispersadas por corrientes oceánicas, es importante conocer el comportamiento de estas corrientes con el fin de predecir con mayor exactitud la dirección del transporte y poder explicar los fenómenos biológicos observados (Gillespie et al., 2012). Adicionalmente, los resultados obtenidos en este estudio del aislamiento de las poblaciones de *N. virginea* del Golfo con respecto a otras poblaciones del Caribe, sugieren que el golfo de Urabá puede estar comportándose como un entorno único y cuyas especies tienen poca conectividad con otras áreas del Caribe. Por lo anterior, es de vital importancia generar planes de manejo que busquen conservar este tipo de ambientes particulares pues de no hacerlo se estaría corriendo el riesgo de que se reduzca la diversidad genética de estas poblaciones conllevando posteriormente a su extinción.

11. CONCLUSIONES

- Se rechaza la hipótesis de estudio de que existe estructuración genética de las poblaciones de *N. virginea* del delta del río Atrato y por lo tanto se acepta la hipótesis nula que indica que no existe estructuración genética de las poblaciones en el Golfo.
- La baja diversidad nucleotídica, la distribución de disparidad de tipo unimodal, el espectro de frecuencias alélicas, la red haplotípica y los estimadores de selección (D de Tajima y F_u) encontrados para *N. virginea* indican una expansión poblacional de ésta especie en el golfo de Urabá, al parecer producto de un evento fundador reciente.
- En el golfo de Urabá existe alto flujo génico entre los individuos de *N. virginea* de todas las localidades, inclusive aquellas más alejadas y confinadas como Bahía Marirrí. Además, este aspecto demuestra la mezcla multidireccional que se produce en las aguas superficiales del golfo.
- Las poblaciones de nerítidos de delta del río Atrato se encuentran aisladas geográficamente del resto del Caribe
- Las poblaciones de *N. virginea* del golfo de Urabá están parcialmente aisladas de las de Panamá, lo que se observa por la baja frecuencia de haplotipos “foráneos” encontrados en la región. A parte de esto, es posible la existencia de una barrera o filtro que impida que larvas de Panamá ingresen y se establezcan en el Golfo, que puede ser los aportes de agua dulce del río Atrato.

12. RECOMENDACIONES

- Evaluar la estructuración de las poblaciones de *Neritina virginea* a macroescala, es decir, considerando poblaciones en todo su rango de distribución (Caribe) con el fin de definir los límites de la metapoblación.
- Utilizar marcadores tipo microsatélites para combinar la información obtenida con ADNmt e indagar si los patrones de estructuración genética de las poblaciones de *N. virginea* cambian de acuerdo al tipo de marcador utilizado y si estos logran demostrar el mismo evento demográfico de expansión poblacional.
- En estudios futuros, considerar la inclusión de una especie con desarrollo directo con el fin de evaluar hasta qué punto pueden estar estructuradas éste tipo de poblaciones en golfo de Urabá y que además pueda servir para realizar un estudio comparativo con especies anfídromas. Igualmente, este tipo de investigaciones contribuiría con determinar el carácter único del golfo de Urabá y la necesidad de generar planes de manejo para su conservación.
- Estudiar en detalle la influencia que tiene el ramal de la contracorriente del Darién en el golfo de Urabá. Así como también incluir poblaciones de la costa Caribe colombiana para determinar cuál es el alcance de esta corriente en la propagación de larvas de *N. virginea* a lo largo de su recorrido.
- Indagar sobre la estructuración genética temporal de *N. virginea* con el fin de entender su dinámica en el Golfo con relación a otras poblaciones del Caribe y conocer cómo cambia la composición genética con respecto al tiempo y así entender la importancia de estos procesos en el mantenimiento de las poblaciones de Urabá.

BIBLIOGRAFÍA

- Allibone R, Wallis G. 1993. Genetic variation and diadromy in some native New Zealand galaxiids (Teleostei: Galaxiidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 50 (1):19–33.
- Alvarez A, Bernal G. 2007. Estimación del campo de transporte neto de sedimentos en el fondo de Bahía Colombia con base en análisis de tendencia del tamaño de grano. *Avances en Recursos Hidráulicos*, 16:41–50.
- Alvera-Azcárate A, Barth A, Weisberg RH. 2009. The Surface Circulation of the Caribbean Sea and the Gulf of Mexico as Inferred from Satellite Altimetry. *Journal of Physical Oceanography*, 39 (3):640–657.
- Amortegui V. 2011. Intervención antrópica (potrerización) en rodales de mangle negro *Avicennia germinans* (Magnoliopsida:Avicenniaceae) en relación a la distribución y abundancia de *Neritina virginea* (Gastropoda: Neritidae) en el golfo de Urabá, Caribe colombiano [tesis]. [Medellín]: Universidad de Antioquia. p. 71.
- Andrews E. 1935. The egg capsules of certain Neritidae. *Journal of morphology*, 57 (1):31–59.
- Andrews E. 1940. The snail, *Neritina virginea*, L., in a changing salt pond. *Ecology*, 21 (3):335–346.
- Arroyave-Rincón A, Blanco J, Taborda-Marín A. 2012. Exportación de sedimentos desde cuencas hidrográficas de la vertiente oriental del golfo de Urabá: influencias climáticas y antrópicas. *Revista de ingenierías*, 11 (20):14–29.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl a. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 16 (1):37–48.
- Barret S, Kohn J. 1991. Genetics and Evolutionary Consequences of Small Population Size in Plants: Implications for Conservation. In: Falk D, Holsinger K, editors. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. New York: Oxford University Press. p. 2–30.
- Baums I, Paris C, Chérubin L. 2006. A bio-oceanographic filter to larval dispersal in a reef-building coral. *Limnology and Oceanography*, 51 (5):1969–1981.
- Beasley CR, Fernandes CM, Gomes CP, Brito BA, Lima SM, Tagliaro CH. 2005. Molluscan diversity and abundance among coastal habitats of northern Brazil. *Ecotropica*, 11:9–20.

Bebler M, Foltz D. 2004. Genetic diversity in Hawaiian stream macroinvertebrates. *Micronesica*, 37 (1):119–128.

Bernal G, Montoya L, Garizábal C, Toro M. 2005a. La complejidad de la dimensión física en la problemática costera del golfo de Urabá, Colombia. *Gestión y Ambiente*, 8 (1):123–135.

Bernal G, Poveda G. 2006. Patrones de variabilidad de las temperaturas superficiales del mar en la costa Caribe Colombiana. *Revista Academica Colombiana*, 30 (115):195–208.

Bernal G, Toro M, Montoya L, Garizábal C. 2005b. Dinámica oceanográfica del golfo de Urabá y su relación con la dispersión de sedimentos. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Fondo ISA. p. 61

Berrebi P, Cattaneo-Berrebi G, Valade P, Ricou J-F, Hoareau T. 2005. Genetic homogeneity in eight freshwater populations of *Sicyopterus lagocephalus*, an amphidromous gobiid of La Réunion Island. *Marine Biology*, 148 (1):179–188.

Bhattacharya J. 2003. Deltas and estuaries. In: Middleton G, editor. *Encyclopedia of sediments and sedimentary rocks*. 1st ed. Dordrecht: Springer. p. 145–152.

Blanco J, Londoño-Mesa M, Quan-Young L, Urrego-Giraldo L, Polanía J, Osorio A, Bernal G, Correa I. 2011. The Urabá Gulf Mangrove Expedition of Colombia. *ISME/GLOMIS*, 9 (3):2011–2013.

Blanco J, Scatena F. 2005. Floods, habitat hydraulics and upstream migration of *Neritina virginea* (Gastropoda: Neritidae) in Northeastern Puerto Rico. *Caribbean Journal of Science*, 41 (1):55–74.

Blanco J, Scatena F. 2007. The spatial arrangement of *Neritina virginea* (Gastropoda: Neritidae) during upstream migration in a split-channel reach. *River Research and Applications*, 23:235–245.

Blanco JF, Scatena FN. 2006. Hierarchical contribution of river–ocean connectivity, water chemistry, hydraulics, and substrate to the distribution of diadromous snails in Puerto Rican streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 25 (1):82–98.

Bohonak A. 1999. Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74 (1):21–45.

Broek T. 1950. On some brackish Water Mollusca from the Lake of Maracaibo. *Zoologische Mededelingen*, 31 (8):79–87.

- Castaño M. 2012. Respuesta poblacional de dos gasterópodos bentónicos *Neritina virginea* (Gastropoda: Neritidae) y *Melampus coffeus* (Gastropoda: Melampidae) a los cambios en la cobertura del manglar (deforestación) en el delta del río Turbo, golfo de Urabá [tesis]. [Medellín]: Universidad de Antioquia. p. 52.
- Chevillot P, Molina A, Giraldo L, Molina C. 1993. Estudio geológico e hidrológico del Golfo de Urabá. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas, :79–89.
- Chubb a L, Zink RM, Fitzsimons JM. 1998. Patterns of mtDNA variation in Hawaiian freshwater fishes: the phylogeographic consequences of amphidromy. *The Journal of Heredity*, 89 (1):8–16.
- Cook BD, Bernays S, Pringle CM, Hughes JM. 2009. Marine dispersal determines the genetic population structure of migratory stream fauna of Puerto Rico: evidence for island-scale population recovery processes. *Journal of the North American Benthological Society*, 28 (3):709–718.
- Cook BD, Pringle CM, Hughes JM. 2008. Molecular evidence for sequential colonization and taxon cycling in freshwater decapod shrimps on a Caribbean island. *Molecular Ecology*, 17 (4):1066–1075.
- Cook BD, Pringle CM, Hughes JM. 2010. Immigration history of amphidromous species on a Greater Antillean island. *Journal of Biogeography*, 37 (2):270–277.
- Correa I, Vernet G. 2004. Introducción al problema de la erosión litoral en Urabá (sector Arboletes-Turbo) Costa Caribe Colombiana. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 33:7–28.
- Couceiro L, Barreiro R, Ruiz JM, Sotka EE. 2007. Genetic isolation by distance among populations of the netted dog whelk *Nassarius reticulatus* (L.) along the European Atlantic coastline. *The Journal of heredity*, 98 (6):603–610.
- Cowen R, Gawarkiewicz G, Pineda J, Thorrold S, Werner F. 2007. Population connectivity in marine systems. *Oceanography*, 20 (3):14–21.
- Cowen RK, Paris CB, Srinivasan a. 2006. Scaling of connectivity in marine populations. *Science (New York, N.Y.)*, 311 (5760):522–7.
- Crandall E. 1999. Early life history aspects of amphidromous neritid snails in Moorea, French Polynesia. *Berkeley Scientific*, 3 (2):98–103.

Crandall ED, Frey M a, Grosberg RK, Barber PH. 2008. Contrasting demographic history and phylogeographical patterns in two Indo-Pacific gastropods. *Molecular ecology*, 17 (2):611–26.

Crandall ED, Taffel JR, Barber PH. 2010. High gene flow due to pelagic larval dispersal among South Pacific archipelagos in two amphidromous gastropods (Neritimorpha: Neritidae). *Heredity*, 104 (6):563–72.

Duke N, Ball M, Ellison J. 1998. Factors influencing biodiversity and distributional gradients in mangroves. *Global Ecology and Biogeography Letters*, 7 (1):27–47.

Ellison AM. 2008. Mangrove ecology – applications in forestry and costal zone management. *Aquatic Botany*, 89 (2):77.

Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics online*, 1:47–50.

Farnsworth EJ, Ellison AM. 1997. The Global Conservation Status of Mangroves. *Ambio*, 26 (6):328–334.

Freeland JR. 2005. *Molecular Ecology*. Chichester: John Wiley and Sons Ltd. p. 388

Galindo HM, Pfeiffer-Herbert AS, McManus M a, Chao Y, Chai F, Palumbi SR. 2010. Seascape genetics along a steep cline: using genetic patterns to test predictions of marine larval dispersal. *Molecular Ecology*, 19:3692–3707.

Galloway W. 1975. Process framework for describing the morphologic and stratigraphic evolution of deltaic depositional systems. In: Broussard M, editor. *Deltas, Models for Exploration*: Houston Geological Society. Houston, Texas:p. 87–98.

Galtier N, Nabholz B, Glémin S, Hurst GDD. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular ecology*, 18 (22):4541–50.

García-Cubas A, Reguero M. 1995. Moluscos de la laguna de Sontecomapan, Veracruz, México: sistemática y ecología. *Hidrobiología*, 5 (1-2):1–24.

García-Valencia C ed. 2007. *Atlas del golfo de Urabá: una mirada al Caribe de Antioquia y Chocó*. Santa Marta: Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR), Gobernación de Antioquia. p. 180

Gillespie RG, Baldwin BG, Waters JM, Fraser CI, Nikula R, Roderick GK. 2012. Long-distance dispersal: a framework for hypothesis testing. *Trends in ecology & evolution*, 27 (1):47–56.

Harpending H, Batzer M. 1998. Genetic traces of ancient demography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95:1961–1967.

Haynes A. 2005. An evaluation of members of the genera *Clithon* Montfort, 1810 and *Neritina* Lamarck 1816 (Gastropoda: Neritidae). *Molluscan Research*, 25 (2):75–84.

Hedgecock D, Barber P, Edmands S. 2007. Genetic approaches to measuring connectivity. *Oceanography*, 20 (3):70–79.

Hodges M, Allendorf F. 1998. Population Genetics and Pattern of Larval Dispersal of the Endemic Hawaiian Freshwater Amphidromous Gastropod *Neritina granosa* (Prosobranchia: Neritidae). *Pacific Science*, 52 (3):237–249.

INVEMAR, CORPOURABÁ. 2003. Diagnóstico, zonificación y definición de la estructura administrativa de manejo de la unidad ambiental costera del Darién, Caribe colombiano Fase I. Caracterización y Diagnóstico. Informe Técnico Preliminar. p. 470+ anexos

Kano Y. 2006. Usefulness of the opercular nucleus for inferring early development in neritimorph gastropods. *Journal of Morphology*, 267:1120–1136.

Kyle CJ, Boulding EG. 2000. Comparative population genetic structure of marine gastropods (*Littorina* spp.) with and without pelagic larval dispersal. *Marine Biology*, 137 (5-6):835–845.

Lasso CA, Martinez-Escarbassiere R, Calpelo JC, Morales-Betancourt MA, Sánchez-Maya A. 2009. Lista de los moluscos (Gastropoda-Bivalvia) dulceacuícolas y estuarinos de la cuenca del Orinoco (Venezuela). *Biota Colombiana*, 10 (1-2):63–74.

Lee H, Boulding EG. 2009. Spatial and temporal population genetic structure of four northeastern Pacific littorinid gastropods: the effect of mode of larval development on variation at one mitochondrial and two nuclear DNA markers. *Molecular Ecology*, 18 (10):2165–84.

Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25 (11):1451–2.

Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27 (2):209–20.

Martins I, Matthews-Cascon H, De Almeida Rocha-Barreira C. 2002. On the morphology of *Neritina virginea* (Linnaeus, 1758)(Gastropoda, Neritidae). *Thalassas*, 18 (2):9–16.

Matthews-Cascon H, Martins I. 1999. Notes on the reproduction of *Neritina virginea* (Linnaeus, 1758) in northeast Brazil (Mollusca: Gastropoda: Neritidae). *Arquivos de Ciências do Mar*, 32:129–132.

Molina A, Molina C, Chevillot P. 1992. La percepción remota aplicada para determinar la circulación de las aguas superficiales del Golfo de Urabá y las variaciones de su línea de costa. *Boletín Científico CIOH*, 11:43–58.

Montoya L, Toro F, Gómez A. 2008. Modelación hidrodinámica de la pluma del río Atrato en el golfo de Urabá, Colombia. In: XXIII Congreso Latinoamericano de Hidráulica. Cartagena:p. 1–15.

Montoya L. 2010. Dinámica oceanográfica del golfo de Urabá y su relación con los patrones de dispersión de contaminantes y sedimentos. [tesis]. [Medellín]: Universidad Nacional de Colombia. p. 254.

Montoya LJ, Toro M. 2006. Calibración de un modelo hidrodinámico para el estudio de los patrones de circulación en el Golfo de Urabá, Colombia. *Avances en Recursos Hidráulicos*, 13:37–54.

Myers M, Meyer C, Resh V. 2000. Neritid and thiarid gastropods from French Polynesian streams: how reproduction (sexual, parthenogenetic) and dispersal (active, passive) affect population structure. *Freshwater Biology*, 44:535–545.

Nieto-Oliveros MJ. 2004. Estudio morfodinámico del delta del río Atrato, golfo de Urabá, a partir de cartografía histórica y percepción remota [tesis]. [Bogotá]: Universidad Nacional de Colombia. p. 121.

Okubo A. 1980. *Diffusion and Ecological Problems: Mathematical Models*. Berlin y New York: Springer Verlag. p. 254

Ortiz LF, Blanco JF. 2009. Moluscos (gasterópodos y bivalvos) asociados a las raíces sumergidas en los manglares del Golfo de Urabá: patrones espaciales y determinantes a macroescala [tesis]. [Medellín]: Universidad de Antioquia. p. 73.

- Ortiz LF, Blanco JF. 2012. Distribución de los gasterópodos del manglar, *Neritina virginea* (Neritidae) y *Littoraria angulifera* (Littorinidae) en la Ecorregión Darién, Caribe colombiano. *Revista de Biología Tropical*, 60 (1):219–232.
- Osorio A, Gomez A, Molina L, Alvarez O, Osorio J. 2010a. Bases metodológicas para caracterizar el oleaje local (SEA) y de fondo (SWELL) en el Golfo de Urabá. In: XXIV Congreso Latinoamericano de Hidráulica. p. 1–12.
- Osorio AF, Molina LG, Osorio JD. 2010b. Caracterización hidrodinámica del oleaje local (SEA) y de fondo (SWELL) en el golfo de Urabá. Medellín: Gobernación de Antioquia, Universidad de Antioquia, Universidad Nacional Sede Medellín, Universidad EAFIT. p. 35–81
- Page T, Torati L, Cook B, Binderup A, Pringle CM, Reuschel S, Schubart C, Hughes JM. 2012. Invertebrés Sans Frontières: Large Scales of Connectivity of Selected Freshwater Species among Caribbean Islands. *Biotropica*, 0 (0):1–9.
- Page TJ, Cook BD, Von Rintelen T, Von Rintelen K, Hughes JM. 2008. Evolutionary relationships of atyid shrimps imply both ancient Caribbean radiations and common marine dispersals. *Journal of the North American Benthological Society*, 27 (1):68–83.
- Palumbi S, Grabowsky G, Duda T, Geyer L, Tachino N. 1997. Speciation and population genetic structure in tropical Pacific sea urchins. *Evolution*, 51 (5):1506–1517.
- Parrent JL, Garbelotto M, Gilbert GS. 2004. Population genetic structure of the polypore *Datronia caperata* in fragmented mangrove forests. *Mycological Research*, 108 (4):403–410.
- Pritchard D. 1967. Observations of circulation in coastal plain estuaries. In: Lauff G, editor. *Estuaries*. American Association for the Advancement. p. 37–44.
- Raymond M, Rousset F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution*, 49 (6):1280–1283.
- Restrepo J, Kjerfve B. 2000. Water Discharge and Sediment Load from the Western Slopes of the Colombian Andes with Focus on Rio San Juan. *The Journal of Geology*, 108 (1):17–33.
- Rocha Ferrapeira CM, Colaço CA, Ferreira D, De Oliveira Marrocos de Melo AV, De Lyra Pinto S, Marinho Verçosa M, Silva de Oliveira DA, Arruda Francisco J. 2009. Zonación vertical del macrobentos de sustratos sólidos del estuario del río

Massangana, Bahía de Suape, Pernambuco, Brasil. *Biota Neotropical*, 9 (1):87–100.

Rogers A, Harpending H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*, 9 (3):552–69.

Roldán P, Gómez E, Toro F. 2008. Patrón de circulación medio en bahía Colombia en las dos épocas climáticas extremas. In: XXIII Congreso Latinoamericano de Hidráulica. p. 1–12.

Roldán P. 2008. Modelamiento del patrón de circulación de la bahía Colombia, Golfo de Urabá. Implicaciones para el transporte de sedimentos [tesis]. [Medellín]: Universidad Nacional de Colombia. p. 113.

Sale PF. 2006. *Coral Reef Fishes: Dynamics And Diversity in a Complex Ecosystem*. Gulf Professional Publishing. p. 549

Scheltema R. 1971. Larval dispersal as a means of genetic exchange between geographically separated populations of shallow-water benthic marine gastropods. *Biological Bulletin*, 140 (2565):284–322.

Schmidt D, Crook D, O'connor J, Hughes J. 2011. Genetic analysis of threatened Australian grayling *Prototroctes maraena* suggests recruitment to coastal rivers from an unstructured marine larval source population. *Journal of fish biology*, 78:98–111.

Seybold H, Andrade JS, Herrmann HJ. 2007. Modeling river delta formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (43):16804–9.

Tan S, Clements R. 2008. Taxonomy and distribution of the Neritidae (Mollusca: Gastropoda) in Singapore. *Zoological Studies*, 47 (4):481–494.

Tepletan S, Aldana-Aranda D. 2007. Densidad y Abundancia del Bentos Asociado a Bancos Ostrícolas en Lagunas Costeras de Tabasco, México. *Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, 59:373–382.

Thomas Y-F, Cesaraccio M, García-Valencia C, Menanteau L. 2007. Contribución de la hidrografía histórica al estudio de la cinemática de los fondos marinos: evolución del golfo de Urabá, Colombia. *Boletín Científico CIOH*, 25:110–119.

Thorrold S, Latkoczy C, Swart P, Jones C. 2001. Natal homing in a marine fish metapopulation. *Science*, 291:297–9.

Toro F, Bernal G, Wills A, Aguirre N, Betancur J, Palacio C, Montoya L, Roldán P, Alvarez A, Gomez F, et al. 2008. Estudio de la relación entre la dinámica oceanográfica del Golfo de Urabá, y la dispersión de contaminantes orgánicos y de sedimentos y el planteamiento de posibles acciones de manejo. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Universidad de Antioquia, Universidad de Medellín. p. 48

Tsukagoshi H, Yokoyama R, Goto A. 2011. Mitochondrial DNA analysis reveals a unique population structure of the amphidromous sculpin *Cottus pollux* middle-egg type (Teleostei: Cottidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 60 (2):265–70.

Uribe-Pérez J, Urrego-Giraldo L. 2009. Gestión ambiental de los ecosistemas de manglar. Aproximación al caso Colombiano. *Gestión y Ambiente*, 12 (2):57–71.

Valles-Jimenez R, Cruz P, Perez-Enriquez R. 2005. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation. *Marine Biotechnology*, 6 (5):475–84.

Velásquez A. 2005. Dirección de transporte de sedimentos costeros en el Golfo de Urabá, Caribe colombiano [tesis]. [Medellín]: Universidad Nacional de Colombia. p. 68.

Vicencio de la Cruz F, González-Gándara C. 2006. Lista actualizada de gasterópodos de la planicie del Arrecife Lobos, Veracruz, México. *Revista UDO Agrícola*, 6 (1):128–137.

Weersing K, Toonen R. 2009. Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Marine Ecology Progress Series*, 393:1–12.

Winnepenninckx B, Backeljau T, Dewachter R. 1993. Extraction of high-molecular-weight DNA from mollusks. *Trends in Genetics*, 9 (12):407.

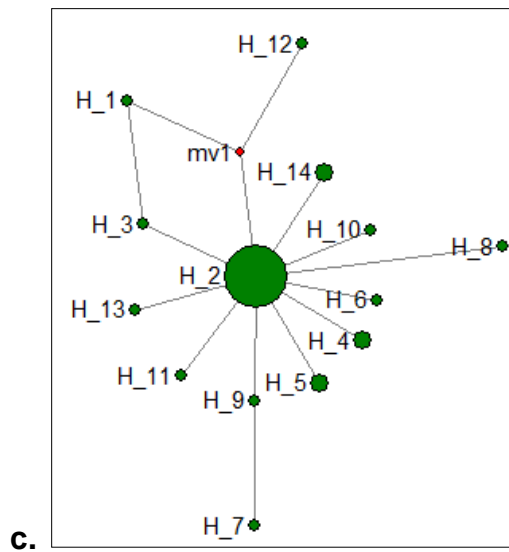
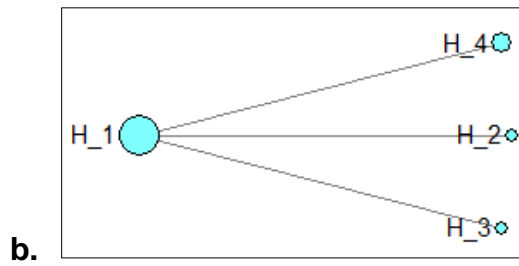
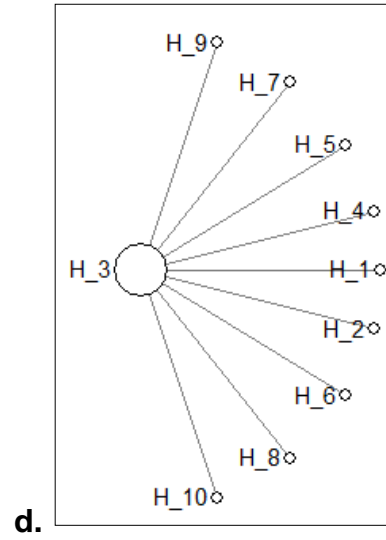
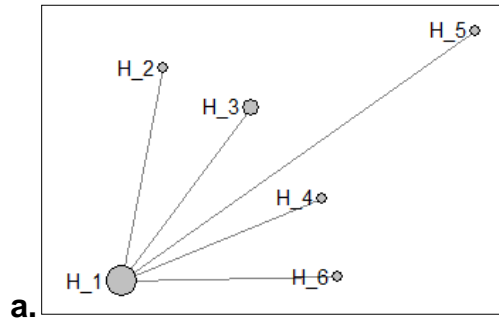
Wright S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28:114–138.

Anexo A. Estimativos Fst y test exacto de diferenciación poblacional

Pairwise Fst (incluyendo secuencias polimorficas)							
	Burrera	Candelaria	Cocogrande	Marirrio	Yerbasal	El Roto	La Paila
Burrera	0.00000						
Candelaria	-0.02299	0.00000					
Cocogrande	0.02916	-0.00598	0.00000				
Marirrio	-0.01155	-0.02460	0.00817	0.00000			
Yerbasal	0.03121	-0.02465	0.03682	-0.02129	0.00000		
El Roto	0.01525	0.00624	-0.00161	0.01617	0.01483	0.00000	
La Paila	0.00112	-0.00256	-0.01282	0.00734	0.02571	-0.00573	0.00000
Fst valor p (incluyendo secuencias polimorficas)							
	Burrera	Candelaria	Cocogrande	Marirrio	Yerbasal	El Roto	La Paila
Burrera	*						
Candelaria	0.85586+-0.0340	*					
Cocogrande	0.03604+-0.0242	0.45946+-0.0515	*				
Marirrio	0.65766+-0.0385	0.87387+-0.0238	0.14414+-0.0242	*			
Yerbasal	0.15315+-0.0194	0.78378+-0.0430	0.13514+-0.0244	0.63063+-0.0470	*		
El Roto	0.12613+-0.0364	0.10811+-0.0297	0.48649+-0.0364	0.12613+-0.0364	0.26126+-0.0286	*	
La Paila	0.44144+-0.0515	0.63063+-0.0384	0.94595+-0.0205	0.16216+-0.0379	0.10811+-0.0264	0.76577+-0.0494	*
Matriz de significancia valores p de Fst (Permutaciones 100)							
	1	2	3	4	5	6	7
1		-	+	-	-	-	-
2	-		-	-	-	-	-
3	+	-		-	-	-	-
4	-	-	-		-	-	-
5	-	-	-	-		-	-
6	-	-	-	-	-		-
7	-	-	-	-	-	-	

Valores p exactos (Valor P exacto = 0.73869 ± 0.06390)							
	1	2	3	4	5	6	
2	0.92368+-0.0058						
3	0.09099+-0.0051	0.98961+-0.0023					
4	0.18352+-0.0093	0.99102+-0.0027	0.55592+-0.0084				
5	0.25271+-0.0031	0.97300+-0.0036	0.13713+-0.0037	0.64386+-0.0099			
6	0.23462+-0.0119	0.71613+-0.0151	0.71028+-0.0127	0.70403+-0.0153	0.43074+-0.0209		
7	0.46446+-0.0103	1.00000+-0.0000	0.96734+-0.0028	0.75038+-0.0052	0.37733+-0.0138	0.69801+-0.0112	
No. de pasos en la cadena de Markov = 100000 / No. de Dememorizaciones = 10000							
Matriz de significancia valores p exactos							
	1	2	3	4	5	6	7
1		-	-	-	-	-	-
2	-		-	-	-	-	-
3	-	-		-	-	-	-
4	-	-	-		-	-	-
5	-	-	-	-		-	-
6	-	-	-	-	-		-
7	-	-	-	-	-	-	

Anexo B. Redes haplotípicas de las distintas localidades



Localidad	
Burrera	Grey
Candelaria	Black
Cocogrande	Light Grey
Marirrio	Blue
Yerbasal	Cyan
Rionegro	Orange
El Roto	Green
La Paila	White

Anexo E. Frecuencias relativas de haplotipos (incluyendo secuencias divergentes)

	Burrera	Candelaria	Cocogrande	Marirrio	Yerbasal	Rionegro	El Roto	La Paila
Hap/ N	14	33	19	23	13	3	41	7
Hap_1	0.643	0.576	0.842	0.739	0.692	1	0.683	0.741
Hap_2	0.143	0.0303	0	0	0	0	0	0.037
Hap_3	0.0714	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_4	0.0714	0	0	0	0	0	0	0
Hap_5	0.0714	0	0	0	0	0	0	0
Hap_6	0	0.0303	0	0.087	0.154	0	0	0
Hap_7	0	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_8	0	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_9	0	0.0303	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_10	0	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_11	0	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_12	0	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_13	0	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_14	0	0.0303	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_15	0	0.0303	0	0	0.0769	0	0.0244	0
Hap_16	0	0.0303	0	0	0	0	0	0
Hap_17	0	0.0303	0	0.0435	0	0	0.0488	0.037
Hap_18	0	0	0.0526	0	0	0	0	0
Hap_19	0	0	0	0.0435	0	0	0	0
Hap_20	0	0	0	0.0435	0	0	0.0244	0
Hap_21	0	0	0	0.0435	0	0	0	0.037
Hap_22	0	0	0	0	0.0769	0	0	0
Hap_23	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_24	0	0	0	0	0	0	0.0488	0
Hap_25	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_26	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_27	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_28	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_29	0	0	0	0	0	0	0	0.037
Hap_30	0	0	0	0	0	0	0	0.037
Hap_31	0	0	0.0526	0	0	0	0	0.037
Hap_32	0	0	0	0	0	0	0	0.037
Hap_33	0	0	0.0526	0	0	0	0	0

Anexo F. Frecuencias relativas de haplotipos (excluyendo secuencias divergentes)

	Burrera	Candelaria	Cocogrande	Marirrio	Yerbasal	Rionegro	El Roto	La Paila
	14	32	19	22	13	3	41	27
Hap_1	0.643	0.594	0.842	0.773	0.692	1	0.683	0.741
Hap_2	0.143	0.0312	0	0	0	0	0	0.037
Hap_3	0.0714	0.0312	0	0	0	0	0	0
Hap_4	0.0714	0	0	0	0	0	0	0
Hap_5	0.0714	0	0	0	0	0	0	0
Hap_6	0	0.0312	0	0.0909	0.154	0	0	0
Hap_7	0	0.0312	0	0	0	0	0	0
Hap_8	0	0.0312	0	0	0	0	0	0
Hap_9	0	0.0312	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_10	0	0.0312	0	0	0	0	0	0
Hap_11	0	0.0312	0	0	0	0	0	0
Hap_12	0	0.0312	0	0	0	0	0	0
Hap_13	0	0.0312	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_14	0	0.0312	0	0	0.0769	0	0.0244	0
Hap_15	0	0.0312	0	0	0	0	0	0
Hap_16	0	0.0312	0	0.0455	0	0	0.0488	0.037
Hap_17	0	0	0.0526	0	0	0	0	0
Hap_18	0	0	0	0.0455	0	0	0.0244	0
Hap_19	0	0	0	0.0455	0	0	0	0.037
Hap_20	0	0	0	0	0.0769	0	0	0
Hap_21	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_22	0	0	0	0	0	0	0.0488	0
Hap_23	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_24	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_25	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_26	0	0	0	0	0	0	0.0244	0
Hap_27	0	0	0	0	0	0	0	0.037
Hap_28	0	0	0	0	0	0	0	0.037
Hap_29	0	0	0.0526	0	0	0	0	0.037
Hap_30	0	0	0	0	0	0	0	0.037
Hap_31	0	0	0.0526	0	0	0	0	0