

Reji 62



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

VARIACION DE LA EXPRESION GENICA DETERMINADA POR PERFILES ELECTROFORETICOS (SDS) EN PROTEINAS DE MUSCULO ABDUCTOR EN DOS POBLACIONES DE *Crassostrea corteziensis* (OSTREIDAE) EN SINALOA Y NAYARIT

**T E S I S**

Que para obtener el Título de :

**B I O L O G O**

P r e s e n t a :

**Carlos García Saez de Nanclares**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	Pág.
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	6
MATERIAL Y METODO	7
RESULTADOS	19
DISCUSION	32
CONSIDERACIONES FINALES	39
LITERATURA CITADA	44
APENDICE	51

"VARIACION DE LA EXPRESION GENICA DETERMINADA POR PERFILES ELECTROFORETICOS (SDS) EN PROTEINAS DE MUSCULO ABDUCTOR EN DOS POBLACIONES DE Crassostrea corteziensis.- (OSTREIDAE) EN SINALOA Y NAYARIT."

RESUMEN.

Mediante la técnica de electroforesis (SDS) se compararon los zimogramas de la parte semitransparente del músculo abductor de dos poblaciones de la especie Crassostrea corteziensis, colectadas en San Blas Nayarit y en Teacapan Sinaloa, esteros con características (salinidad, temperatura, hidrodinámica, etc.) diferentes.

Se analizaron a través de un estudio estadístico -- comparativo los factores de corrimiento de cada proteína para cada individuo.

No se encontraron diferencias significativas en las bandas que eran comunes para ambas poblaciones, aunque la población de San Blas presentó un número mayor de bandas (17) que la de Teacapan (13).

Los resultados mostraron que no hay gran diferencia a nivel proteínico, aunque sí la hay a nivel de la morfología de la concha; se discute la utilidad de esta técnica en la discriminación de especies y razas geográficas -- en apoyo a los criterios ya existentes. Se interpretan además los resultados en el contexto de las diferentes -- teorías e hipótesis que existen para explicar la variación en poblaciones naturales.

"VARIATION OF THE GENIC EXPRESSION BY MEANS OF ELECTROPHORETIC PROFILES (SDS) IN PROTEINS OF ABDUCTOR -- MUSCLE IN TWO POPULATIONS OF Crassostrea corteziensis. (OSTREIDAE) IN SINALOA AND NAYARIT.

SUMMARY.

By means of the electrophoretic technic (SDS) the zimmograms of abductor muscle of two populations of Crassostrea corteziensis collected in San Blas Nayarit and in Teacapan Sinaloa were compared.

A comparative statistical analysis was made to compare the running factors for one of each proteins.

No significative differences were founded between the populations for common proteins, even when the San Blas population had more bands (17) than the teacapan population (13).

The results shows that there is no a great difference in proteins, although the difference in the conch morphology is quite significative.

A discussion of the utility of these technics for the discrimination of species and geographical races is made.

The results are interpreted in base of the different theories and hipotesis of evolution to explain the variation of natural populations.

## INTRODUCCION

El conocimiento de la variabilidad biológica en los seres vivos a fin de establecer, si constituyen razas, subespecies o especies, ha sido un punto de investigación por largo tiempo, pues Darwin más que dar solución a la cuestión del origen de las especies solo dejó abierto el enigma (Dobzhansky, 1976a; Gishelin, 1972; Mayr, 1963).

Un primer acercamiento al problema implica la distinción básica entre lo que es la variación intrapoblacional y las diferencias entre poblaciones, que pueden ser consideradas como sujetas a procesos cladogénicos. En base a la síntesis neodarwinista clásica (Huxley, 1974; Fisher, 1958; Mayr, 1963; Dobzhansky, 1969; Dobzhansky, 1975; Dobzhansky et. al., 1977; Simpson, 1953; Haldane, 1966), se postula que los mismos procesos que producen la variabilidad, principalmente mutaciones ocurridas al azar con valor adaptativo serán seleccionadas favorablemente y se fijarán en la población como parte del proceso que origina nuevos taxa. De acuerdo con lo anterior, cualquier estructura o carácter observable en la población sería necesariamente adaptativo.

Este fue el punto de vista más aceptado para ex

plicar la variación a cualquier nivel tanto enzimático como morfológico; ya desde la época en que se construyó la síntesis moderna existía discusión entre la escuela "Clásica" y la "Equilibrada" (Lewontin, 1979); pero el punto real de ruptura se dio cuando las técnicas electroforéticas se aplicaron por primera vez para medir la variabilidad en poblaciones naturales (Hubby, 1963; Sims, 1965; Hubby y Lewontin, 1966; Lewontin y Hubby, 1966); estas mostraron, que la variabilidad dentro de las poblaciones era mucho mayor que lo que se había predicho.

El problema hoy en día gira en torno a la forma de como debe explicarse esta variación enzimática tan alta. La forma alternativa de interpretar estos valores de polimorfismo enzimático es afirmando que no todos los caracteres (a nivel molecular) tienen por fuerza un valor adaptativo, sino que algunos son neutros y se fijan al azar en la población (Kimura y Ohta, 1971a; Kimura y Ohta 1971b.; Ohta, 1974; King y Jukes, 1969; Nei, 1975).

Una implicación de la teoría neutralista es que el polimorfismo es solo una fase de la evolución molecular y por tanto caracterizar poblaciones a través de medidas de heterocigosidad y polimorfismo derivadas de técnicas electroforéticas no tendría mucho sentido (Lewontin, 1979).

Para demostrar lo contrario se han hecho algunos trabajos tanto experimentales como teóricos para aportar evidencia de que el polimorfismo enzimático es adaptativo (Ayala y Gilpin, 1974; Ayala y Anderson, 1973; Johnson, -- 1972; Johnson, 1973; Berger, 1976). Hoy en día la discusión sigue abierta y cada escuela aporta modelos teóricos, realiza experimentos, encuentra evidencia, etc. para apoyar su posición. Más adelante en la discusión de los resultados se examinarán las dos posiciones y las posibles alternativas con detenimiento.

Con respecto a los invertebrados marinos la mayoría de los estudios se han efectuado para medir el grado de polimorfismo y heterocigosidad dentro de las poblaciones, Nevo, (1978); ha hecho una extensiva revisión de estos estudios, encontrando que el polimorfismo (1-heterocigosidad) en los invertebrados (0.397) es mucho mayor que en los vertebrados (0.173), estas diferencias tal vez se deban a las llamadas estrategias adaptativas como son la duración del ciclo de vida, el número de descendientes, la energía invertida en la reproducción, el cuidado de las crías, el tamaño del organismo, etc. (Pianka, 1970).

Los estudios comparativos entre poblaciones de la misma especie y entre especies estrechamente emparentadas son menos numerosos y manejan el mismo criterio utili-



zado en los trabajos que miden la variabilidad de una misma población, aunque toman en cuenta la heterogeneidad ambiental para interpretar sus resultados, pensando que existen presiones selectivas que modifican sus valores de heterocigosis y polimorfismo (Costa y Bisol, 1978; Selander y Kaufman, 1973; Schopf y Murphy, 1973).

En el caso de moluscos sobre todo gasterópodos y bivalvos los trabajos también tratan de encontrar correlación entre los diferentes ambientes, zonas, grado de contaminación, aislamiento, flujo genético, etc. y los valores de variabilidad antes mencionados (Koehn y Mitton, 1972; Berger, 1973; Levinton, 1973; Wada, 1975; Newkirk y Doyle, 1979). Para especies de la familia Ostreidae siguiendo los criterios anteriores (Johnson et. al., 1972; Wilkins y Mathers, 1973; Fujino y Nagayama, 1977; Torigoe, 1978) comparan poblaciones y especies cercanas mediante sus perfiles electroforéticos para tratar de inferir los posibles procesos de especiación y las relaciones filogenéticas de estos organismos.

La familia Ostreidae representa un problema interesante, pues la mayoría de las especies de los géneros Ostrea y Crassostrea presentan una variabilidad muy grande en cuanto a la morfología de la concha. Se ha visto -

(Galtsoff, 1964) que esta diversidad de formas es un producto del medio ambiente, o sea modificaciones de la concha producto de las diferentes condiciones como el sustrato donde crece, acción de corrientes y oleaje, temperatura, salinidad, turbiedad, etc. Debido a esto ha existido una gran confusión en cuanto a la definición de especie solamente a partir de criterios morfológicos.

Para tratar de solucionar el problema taxonómico y filogenético y conocer las características poblacionales tanto demográficas como genéticas que hacen posible una mejor explotación (ya que estos organismos son de importancia comercial), en nuestro país se han hecho trabajos de tipo citotaxonómico (Rodríguez-Romero et. al., 1978, 1979a, 1979b, 1979c, 1979d) y cromatográfico (Campos, 1982) que han aportado valiosa información en cuanto a las relaciones parentales de los ostiones en las costas mexicanas.

## OBJETIVOS

En virtud de que hasta el momento no han sido -- utilizadas las técnicas electroforéticas en apoyo a la dilucidación de la sistemática, taxonomía y filogenia de ostiones de las costas mexicanas, es objetivo del presente estudio buscar las posibles diferencias a nivel de electro morfos de poblaciones que presumiblemente están sujetas a condiciones ambientales en promedio diferentes. Se escogió a Crassostrea corteziensis, Hertlein., por ser una especie endémica de aguas mexicanas y que soporta una gran variedad de condiciones ambientales. Además, la variabilidad de las poblaciones en cuanto a la morfología de la concha es muy grande, dependiendo de la zona geográfica.

Como objetivo secundario se pretende desarrollar y homogeneizar la técnica de electroforesis en geles de poli acrilamida (SDS, TRIS) para una aplicación a gran escala.

## MATERIAL Y METODO

1.- Colecta

El material biológico fue colectado en dos localidades del Océano Pacífico Mexicano; el estero del Pozo en San Blas Nayarit, donde se encuentran poblaciones de ostiones sujetas a una salinidad variable, siendo más importantes estas variaciones en la época de lluvias, ya que los esteros tienen aportes de agua dulce. La otra zona de colecta fue escogida en el estado de Sinaloa, en particular el estero de Teacapan que presenta salinidades muy altas durante todo el año (40 partes por mil), fig.1. La colecta se realizó en junio de 1982.

Los ostiones fueron seleccionados al azar para obtener una muestra representativa de la población; su identificación como Crassostrea corteziensis, Hertlein se llevó a cabo según la clasificación de Abbott (1974). Estos fueron congelados inmediatamente en bióxido de carbono sólido (-20 C) para evitar la desnaturalización de enzimas y proteínas. Posteriormente fueron transportados a la

# AREA DE COLECTA

8.

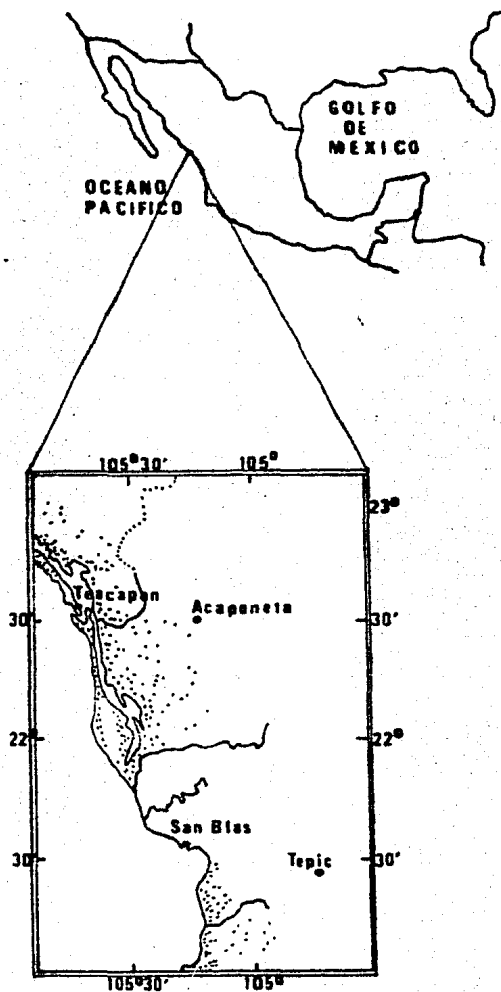


Fig.1.

ciudad de México donde se guardaron en refrigera-  
ción a -20 C.

## 2.- Material

REACTIVOS	PROVEEDOR
Acrilamida	Biorad
Metil Bis-Acrilamida	Biorad
Persulfato de Amonio	Biorad
Tetrametilendiamina (TEMED)	Biorad
Dodecil sulfato de sodio (SDS)	Biorad
Cámara Electroforética (Fig.2)	Biorad
Glicina	Sigma
Azul de Bromofenol	Biorad
Azul de Comassie R-250	Biorad
Tris	Sigma

Todos los reactivos usados fueron de grado analítico.

## 3.- Obtención de Homogenados

Se tomaron 30 ejemplares de cada población con el fin de obtener una muestra representativa (Zar, 1974; Sokal y Rohlf, 1969).

A cada ejemplar previo descongelamiento se le extrajo del músculo abductor la parte semitransparente y se homogenizo en Buffer Tris-Fosfato ph 7.3 durante 3 minutos, esta operación se realizó en frío con el fin de evitar una posible desnaturalización de las proteínas, los homogenados fueron centrifugados en ultracentrifuga a 10,000 R.P.M. durante 15 minutos. En el sobrenadante se midió la concentración de proteína por -

A280 (se asumió que una unidad A280 en una cubeta de - un centímetro equivale a un miligramo por cada mililitro de proteína). Para evitar contaminación con otros organismos se almacenó cada uno de ellos en diferentes tubos de ensaye, posteriormente se almacenaron hasta - su uso a -20 C.(entre 10 y 15 días).

#### 4.- Obtención de Electroforesis

La electroforesis se llevó a cabo en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS), siguiendo básicamente la técnica de Laemmli (1970); en geles de poliacrilamida al 12.5% en presencia de SDS; éste es un sistema discontinuo que utiliza un gel concentrador de proteínas en la parte superior con unas dimensiones aproximadas de 10 x 2 centímetros y un milímetro de espesor, este gel concentrador esta al 4%.

El gel separador (12.5%) en el cual corren y se separan las proteínas, a esta concentración específica para proteínas entre 10K y 200K Daltons, tiene unas dimensiones aproximadas de 8 x 8 centímetros y un espesor de un milímetro.



## a) Protocolo para los geles

Solucion A. Acrilamida (50grs.) y bisacrilamida -  
(1.32grs.) se disuelven en agua para dar -  
un volumen final de 165ml.

B. Buffer del gel separador; Tris (18.7grs.)  
y SDS 10% (4ml.) son disueltos en 80ml. -  
de agua. Después de ajustar el pH a 8.8-  
con HCL concentrado el volumen es llevado  
a 100ml con agua.

c. Buffer del gel concentrador Tris (6.06grs.)  
y SDS 10% (4ml.) son disueltos en 80ml. de  
agua. Después de ajustar el pH. a 6.6 con  
HCL concentrado el volumen es llevado a -  
100ml. con agua.

D. Buffer de la cámara electroforética, Tris-  
(1.52grs.), glicina (7.21grs.) y SDS 10% -  
(5ml.). Son disueltos en 450ml. de agua --  
despues de ajustar el pH a 8.6 con NaOH --  
10N. El volumen es llevado a 500ml. con -  
agua.

E. Buffer de la muestra, se mezclan 1.25ml. - del buffer separador 10% SDS, glicerol -- (1ml.) azul de bromofenol 0.05% (4ml.) y - agua para un volumen final de 10ml.

F. Persulfato de amonio al 10%, se disuelven- 100mg. en un mililitro de agua, esta solu- ción se prepara antes de usarse.

b) Preparación del gel separador

1.5ml. de solución B, 2.5ml. de solución A, 2ml. - de agua 5 microlitros de TEMED y 20 microlitros - de persulfato de amonio se mezclan, esta mezcla - se vierte en el molde hasta una altura aproximada de 8 cm., se agrega una pequeña capa de agua en - la parte superior para tener un frente homogéneo- y finalmente se deja polimerizar durante una hora.

c) Preparación del gel concentrador.

0.63ml. de solución C., 0.33 ml. de solución A, - 1.54ml. de agua, 2.5 microlitros de TEMED y 12.5- microlitros de persulfato de amonio, se mezclan y se vierten en el molde donde previamente se remo- vió la capa de agua, se coloca el peine cuidando-

que no se formen burbujas y se deja polimerizar.

d) Preparación de la muestra.

Con la solución E. se ajusta cada una de las concentraciones de los diferentes organismos a ---- 0.5mg. por cada mililitro, en general la proporción muestra, solución E. fue de 1:1.5.

e) Aplicación de la muestra.

Con una jeringa Hamilton se aplican en cada uno de los carriles formados por el peine 25 micro - litros de muestra, que equivalen a 12.5 microgramos de proteína. La muestra va al fondo debido a que es mas densa por el glicerol. (Fig.2).

f) Condiciones de la corrida.

Después de haber sido colocado el gel en la cámara electroforética y haberse aplicado la muestra, junto con la solución D. en los tanques de dicha cámara, se hizo pasar corriente (50 volts, - - 11.3mAmp.) hasta que el frente entrara al gel separador, a continuación se elevó el voltaje a -- 100 con un amperaje de 13.8mAmp. Al llegar el -

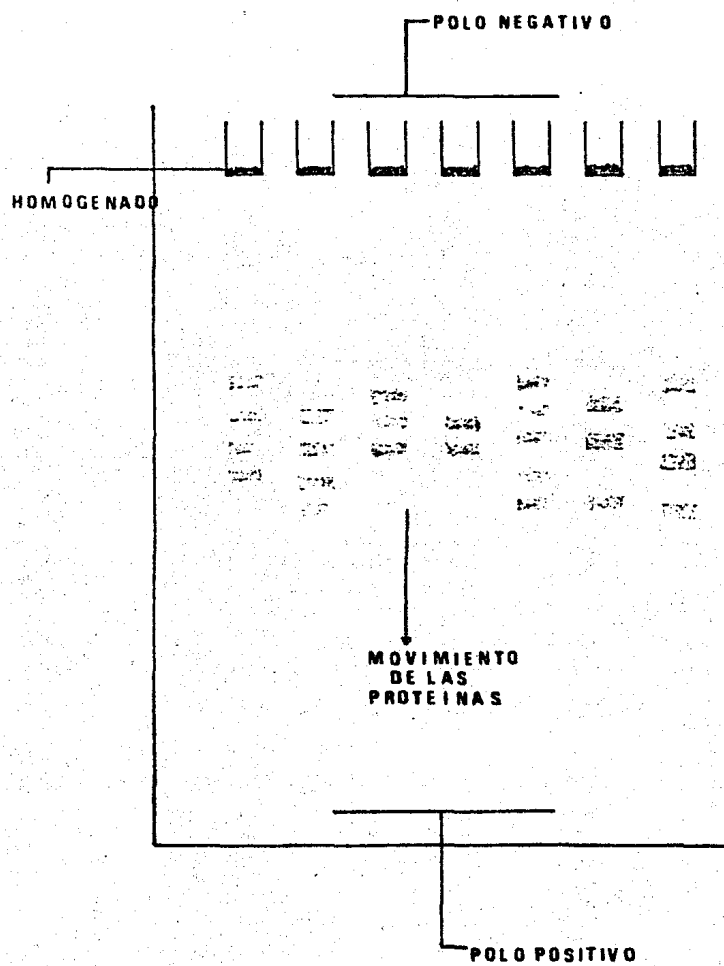


Fig.2. Esquema que muestra el aparato electroforético.

frente al final del gel se cortó la corriente eléctrica y este se puso a teñir.

g) Tinción.

Los geles se tiñeron con azul de Comassie - -- R-250, poniendo el gel en una solución 25% isopropanol y 10% de ácido acético además de 0.02% de azul de Comassie por dos horas, esto con el fin de fijar y teñir a las proteínas. El exceso de colorante se quitó con una solución 10% - ácido acético por 24 horas (Swank y Munkres, --- 1971). Finalmente, se tomó control fotográfico de cada uno de los geles.

h) Cálculo de los factores de corrimiento.

En cada carril el cual correspondía a cada uno de los organismos, se midieron las distancias de las proteínas más conspicuas y se compararon con la distancia total del gel teniendo de esta manera una medida relativa para cada proteína.

$$RF = \frac{DP}{DTG}$$

\* DP Distancia de la proteína  
 DTG Distancia total del gel  
 RF Factor de corrimiento

i) Análisis de los datos.

Con el fin de evaluar la variabilidad y dispersión de cada una de las poblaciones se hizo un análisis estadístico con el paquete BASIS - (Burroughs Advanced Statistical Inquiry System) de la computadora B7700 del Programa Universitario de Computo de la UNAM.

Posteriormente, en base al análisis hecho (histogramas, prueba de "t" y estadística básica - que incluye media, varianza, desviación standar, etc.). (Ver Apéndice). Los diferentes intervalos de clase fueron analizados por separado con el fin de evaluar la variabilidad de proteínas con un peso molecular parecido y de tener un punto de comparación más fino. Finalmente se aplico la prueba de "t" para dos -- muestras (comparación de medias), (Zar, 1974; Sokal y Rohlf, 1969) con el fin de evaluar la hipótesis nula de que no había diferencias entre las medias de las poblaciones, asumiendo homogeneidad de varianzas. Esto se hizo para cada intervalo de clase. Con estos datos se-

elaboraron tablas y graficas para comparar-  
las dos muestras correspondientes a cada --  
sitio.

## RESULTADOS

Mediante la electroforesis se tipificaron los patrones (zimogramas SDS) para cada una de las poblaciones de Teacapan, Sinaloa y San Blas Nayarit de Crassostrea corteziensis, Hertlein.

La población de San Blas presentó en promedio 12-bandas de proteínas mientras que la de Teacapan tuvo solo 10. (Ver láminas 1 a 9).

Los diferentes intervalos de clase o zonas se compararon unos con otros tomando como referencia a la población de San Blas. Como se observa en la tabla 1 la población de San Blas es más diversa.

Según el análisis estadístico general la población de San Blas presenta una desviación estándar mayor que la de Teacapan; además, de un coeficiente de variación también mayor.

La prueba de "t" (tabla 2), sugirió que las poblaciones provienen de una misma población, es decir, se acepta la hipótesis nula.

Con el fin de tener un punto de comparación más fino, pero que no introdujera "ruido" en el sentido de la variación intrapoblacional se tomaron los intervalos de clase como zonas discretas en las cuales se encontraban protei-



nas de peso molecular parecido (Ver Fig.3) realizándose el mismo análisis estadístico; además de comparar las medias- asumiendo homogeneidad de varianzas.

La tabla 1 indica que los valores de la variabilidad dentro de cada zona es casi despreciable, esto demuestra que por lo menos en la misma población las proteínas en cuanto a su peso molecular no existe gran variabilidad.

La comparación zona por zona (tabla 2), indicó - que existen 3 zonas en donde la hipótesis nula no es rechazada, es decir, sus medias pertenecen a la misma muestra, - por el contrario 6 zonas rechazan la misma hipótesis.

SAN BLAS

TEACAPAN

ZONAS	
<input checked="" type="checkbox"/>	1
<input checked="" type="checkbox"/>	2
<input checked="" type="checkbox"/>	3
<input checked="" type="checkbox"/>	4
<input checked="" type="checkbox"/>	5
<input checked="" type="checkbox"/>	6
<input checked="" type="checkbox"/>	7
<input checked="" type="checkbox"/>	8
<input checked="" type="checkbox"/>	9
<input checked="" type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	11
<input checked="" type="checkbox"/>	12
<input type="checkbox"/>	13
<input checked="" type="checkbox"/>	14
<input type="checkbox"/>	15
<input type="checkbox"/>	16
<input checked="" type="checkbox"/>	17
<input type="checkbox"/>	18
<input checked="" type="checkbox"/>	19
<input checked="" type="checkbox"/>	20
<input checked="" type="checkbox"/>	21

Fig.3. Número de zonas (pesos moleculares) presentes en cada población.

PRESENTE

AUSENTE

ZONA	San Blas		Teacapan	
	X	S.D	X	S.D
1	0.062	0.001	-	-
2	0.103	0.011	0.100	0.007
3	0.120	0.004	0.127	0.008
4	0.175	0.011	0.169	0.003
5	0.225	0.011	-	-
6	0.246	-	0.267	0.005
7	0.310	0.026	0.290	0.014
8	0.339	0.012	0.332	0.014
9	0.375	0.013	0.374	0.013
10	0.407	0.009	0.404	0.004
11	0.457	0.008	-	-
12	0.491	0.006	-	-
13	-	-	0.549	0.007
14	0.589	0.003	0.576	0.011
15	-	-	0.622	0.010
16	-	-	0.658	0.013
17	0.696	0.077	0.690	0.014
18	-	-	0.717	-
19	0.788	-	-	-
20	0.855	0.008	-	-
21	0.887	0.008	-	-

Tabla 1.

Resultados de la variabilidad en peso molecular por zona.

TOTAL  $t_{0.05(2)}(355 \ 278) \ 0.08$

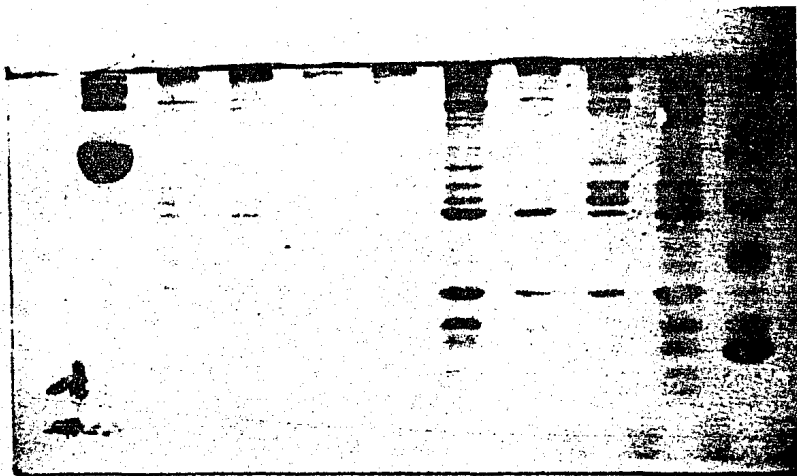
"t"

ZONA

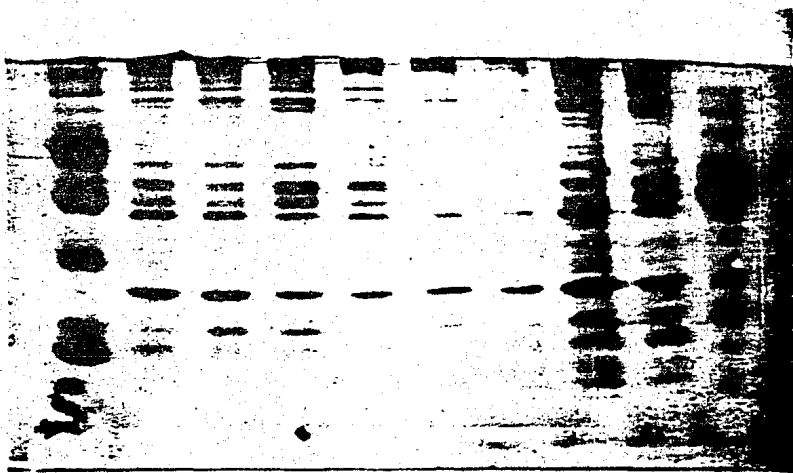
2	$t_{0.05(2)}(30 \ 35) \ 3.22^*$
3	$t_{0.05(2)}(37 \ 21) \ 3.49^*$
4	$t_{0.05(2)}(14 \ 47) \ 2.04^*$
7	$t_{0.05(2)}(17 \ 10) \ 2.70^*$
8	$t_{0.05(2)}(36 \ 40) \ 2.57^*$
9	$t_{0.05(2)}(6 \ 31) \ 0.07$
10	$t_{0.05(2)}(27 \ 11) \ 1.22$
14	$t_{0.05(2)}(26 \ 2) \ 2.11^*$
17	$t_{0.05(2)}(22 \ 21) \ 1.23$

Tabla 2. Resultados de la prueba de "t" STUDENT. Comparación de medias por zona, con un nivel de confianza del 95%.

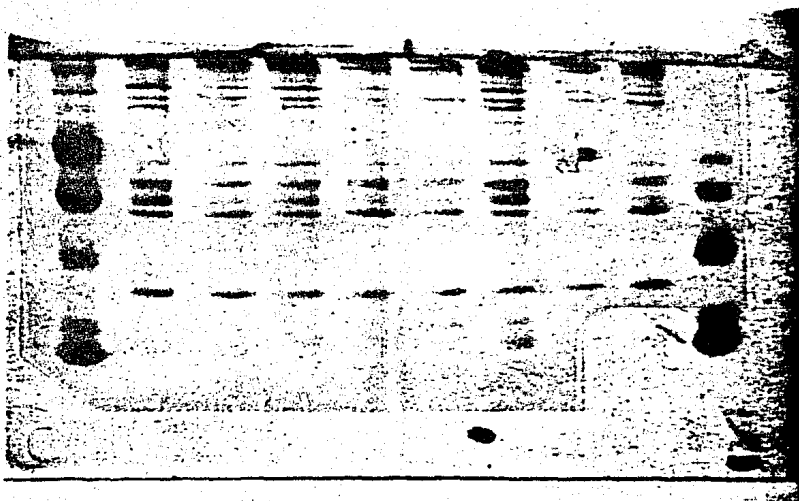
\* Se rechaza la hipótesis nula.



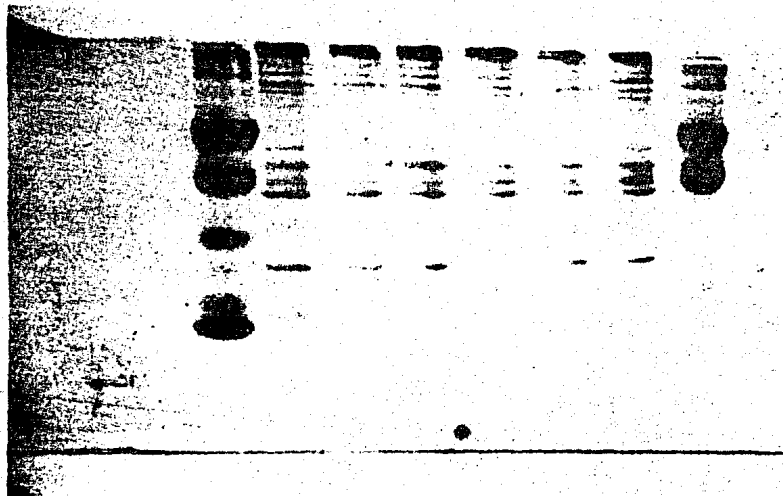
Fotografía 1. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de Teacapan (las Bandas de los extremos son estándares).



Fotografía 2. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de Teacapan (las Bandas de los extremos son estándares).

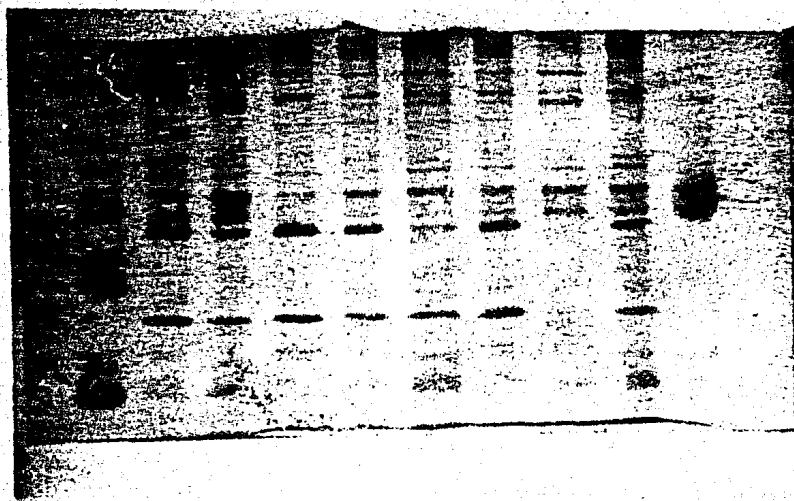


Fotografía 3. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de Teacapan (las Bandas de los extremos son estándares).

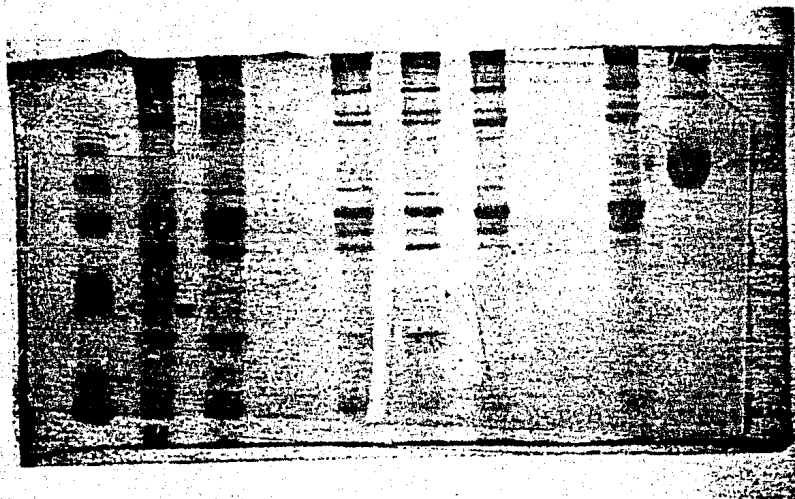


Fotografía 4. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de Teacapan (las Bandas de los extremos son estándares).

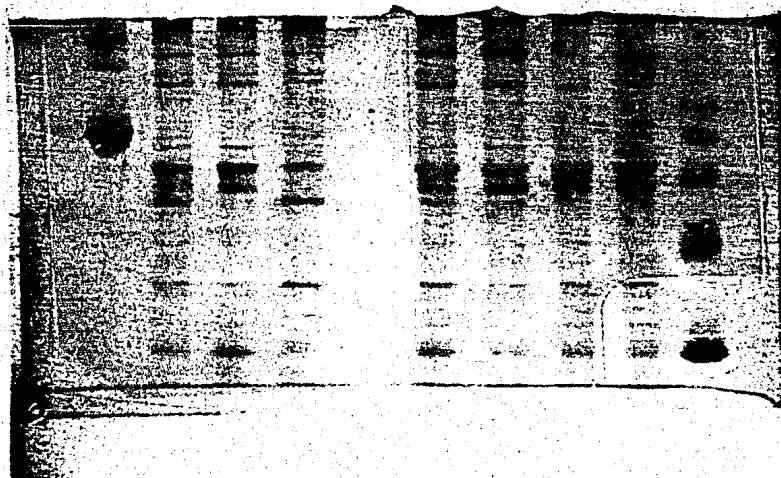




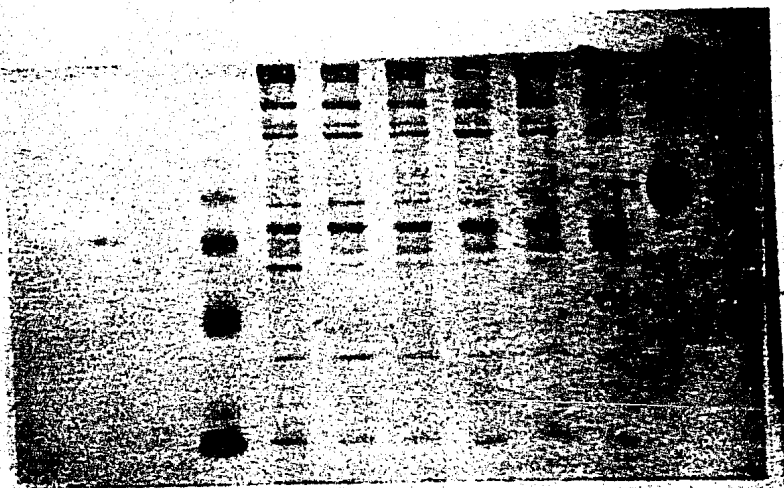
Fotografía 1. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de San - Blas (las Bandas de los extremos son estándares).



Fotografía 2. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de San Blas (las Bandas de los extremos son estándares).



Patrón 3. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de San - Blas (las Bandas de los extremos son estándares).



Fotografía 4. Patrón electroforético de proteínas (SDS) correspondientes a la población de San - Blas (las Bandas de los extremos son estándares).

## DISCUSION

La comparación de las dos poblaciones tomando en cuenta la totalidad de los factores de corrimiento muestran que las medias cumplen con la hipótesis de que pertenecen a una misma población, lo que equivale a decir que las dos localidades tienen poblaciones que no difieren significativamente por lo menos en cuanto al músculo abductor.

Si se toma en cuenta únicamente el criterio de la medida anterior se podría concluir que las dos poblaciones son muy parecidas, pues la media de cualquier muestra estadística esta determinada por los factores que tienen en común.

Todo lo anterior indica que a nivel de las proteínas del músculo abductor, estructura escogida debido a su estabilidad ya que tanto sus proteínas estructurales como sus enzimas no actúan sobre un sustrato proveniente del exterior (Selander, 1976 y Johnson, 1976), las poblaciones no difieren; para ejemplificar lo anterior se construyeron dos gráficas para relacionar tanto los factores de corrimiento (Fig.4), como las zonas establecidas en base a los pesos moleculares (Fig.5).

La figura 4 indica como las zonas comunes de ambas poblaciones son muy similares (coeficiente de correla-

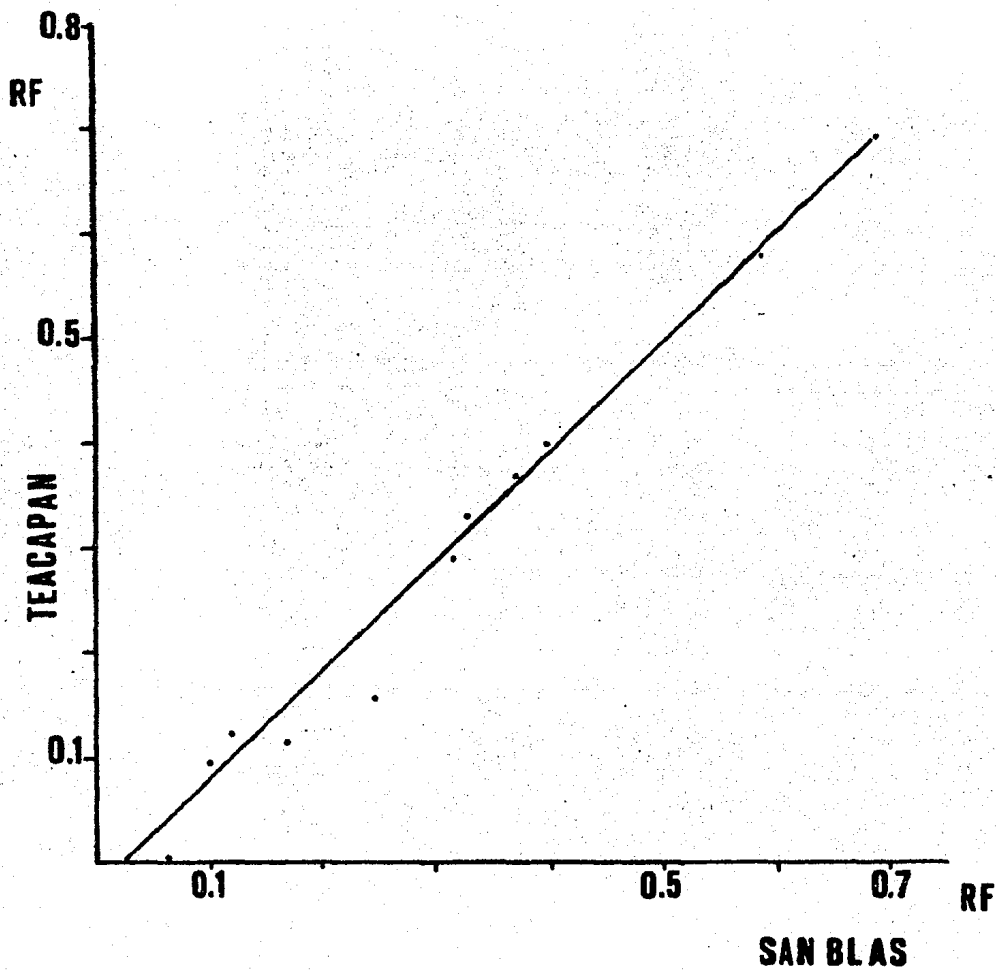


Figura 4. Comparación de coeficientes de corrimiento.

Coef. de Corr: .995

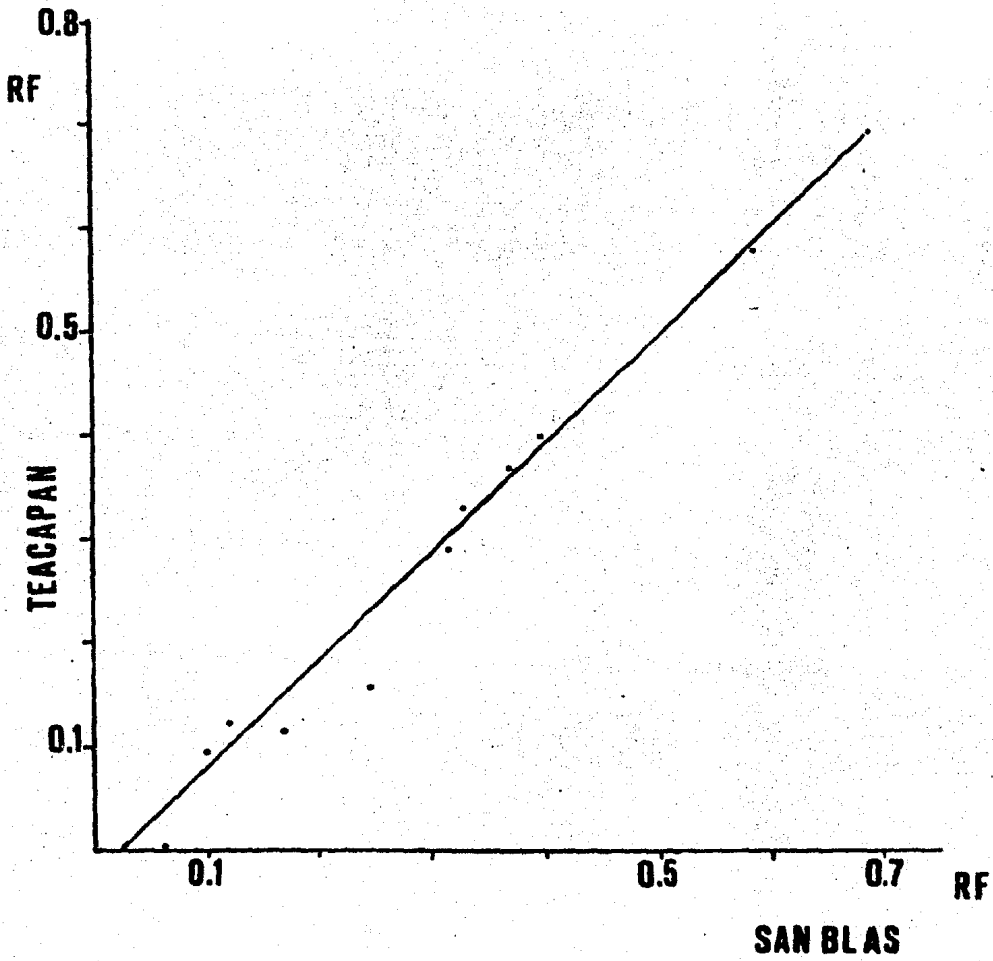


Figura 4. Comparación de coeficientes de corrimiento.

Coef. de Corr: .995

R.F

1.0

0.5

0.1

— SAN BLAS

- - - - TEACAPAN

ZONA

S.D < 0.01

Figura 5. Zonas de pesos moleculares cercanos comparadas con factores de corrimiento.



ción 0.995), cuando se comparan sus factores de corrimiento. La figura 5 muestra como las zonas establecidas de ambas poblaciones comparadas con los R.F. y además graficando tanto las zonas comunes como las diferentes muestran como las poblaciones son muy parecidas.

A pesar de que algunos carriles no se tiñeron por alguna razón desconocida (ver fotografías) los resultados -- de comparar zona por zona muestran que existen diferencias -- significativas en casi todas las zonas, lo anterior indica -- que en cada localidad existen características particulares -- que tal vez actúan como presiones selectivas que han llevado a estos organismos a una marcada diferencia morfológica, pue -- de agregarse también en apoyo a esta idea el hecho de que la población de San Blas tiene una mayor cantidad de proteínas -- (fig.3). El resultado anterior puede deberse a que las condiciones de Teacapan, que por ser un estero sin aportes de -- agua dulce sus condiciones promedio anuales son más estables (Jackson, 1974). La especie en estudio C.corteziensis pre -- senta una amplia variabilidad en la morfología de la concha, originalmente fue clasificada como Ostrea chilensis, pero -- Hertlein en 1951 encontró suficientes diferencias morfológicas en los ostiones de Sonora como para proponer una nueva -- especie a la que llamó Ostrea corteziensis. Posteriormente,

en base a las características anatómicas fue considerada como perteneciente al género Crassostrea (Rodríguez Romero op. cit.).

Los resultados anteriores son consistentes con lo propuesto por Jackson (1974) quien afirma que los bivalvos que habitan en profundidades menores a un metro están sujetos a presiones selectivas diferentes de los que habitan a una mayor profundidad. Debido a esto tienen una mayor distribución geográfica, toleran una gran diversidad de ambientes y tal vez sus etapas larvarias son más largas. Su conclusión más importante, es que la diversidad en estos organismos es menor que los que viven en profundidades mayores, esto es, que estas poblaciones tienden a una menor especiación y por lo tanto su tasa de extinción es más baja; sus resultados los obtuvo después de estudiar y comparar bivalvos del registro fósil y de poblaciones actuales en varios lugares del mundo.

El problema de la discriminación de poblaciones o especies en organismos que difieren en un amplio grado en su morfología externa en el género Crassostrea es interesante porque la variabilidad morfológica es muy alta mientras que los resultados de investigaciones citogenéticas con especial referencia a los cariotipos y números cromosómicos muestran una gran estabilidad en el género.

Las consideraciones principales que se tienen -- que hacer respecto a la correlación existente entre la expresión génica medida a través de técnicas electroforéticas y la morfología externa en relación con las variaciones que son producto de presiones selectivas, son las preguntas más importantes a las que debemos responder. Lo anterior es difícil de establecer en la actualidad por la razón de que el problema de la variabilidad intrapoblacional es motivo de controversia debido principalmente a las diferentes causas que se le atribuyen a ésta. En este estudio es casi seguro que si se hubiera utilizado la técnica común para medir la variabilidad por el número de alelos para diferentes enzimas la cantidad de variación hubiera sido muy alta y no se hubiera podido discriminar entre la variabilidad intrapoblacional y la variabilidad interpoblacional.

A partir de estos resultados no es posible saber con un alto grado de precisión si las poblaciones se encuentran o no en un proceso de especiación. Es necesario combinar el mayor número de parámetros para poder concluir con certeza sobre la causa y características de la cladogenesis de estos grupos. Además de la electroforesis deben combinarse experimentos de hibridación con técnicas citogenéticas como el bandeo cromosómico para tener una base más sólida en que apoyarnos. Mi opinión particular es que la elec-

troforesis por si sola es de gran ayuda para discriminar es  
pecies, pero en el caso de poblaciones de la misma especie -  
la técnica por si sola es poco confiable.

## CONSIDERACIONES FINALES

La discusión anterior, desde el punto de vista de la teoría sintética de la evolución se interpretaría como un caso de polimorfismo debido a la acción de la selección balanceadora (Wills, 1973), es decir, que el polimorfismo se mantiene debido a que cada una de las variaciones tiene un valor selectivo y por tanto cualquier diferencia morfológica lo tendrá también, según el criterio de Wills (op.cit.) esta posición es la llamada panselccionista.

Además de los trabajos mencionados para comprobar que el polimorfismo es adaptativo, también se han propuesto otras hipótesis para explicar la existencia de éste a través de los ambientes en mosaico (Levins, 1968; Gillespie, 1974) y evolución en ambientes heterogéneos. Asimismo, se ha propuesto que esta diversidad genética se debe a una selección dependiente de la frecuencia de alelos dada por depredadores, competidores y parásitos (Clarke, 1979).

En síntesis actualmente se puede encontrar alguna explicación adaptativa en cualquier carácter morfológico o polimorfismo enzimático, cayendo en lo que Gould y Lewontin (1979) llaman el "Programa adaptacionista", en donde se hace una extensa crítica a cerca del papel casi omnipotente que se le da hoy en día entre los seguidores de la teoría -

sintética ortodoxa a la selección natural, haciendo esto en el nombre de Darwin; error que el mismo intento corregir - (Gould y Lewontin, 1979; Gould, 1980; 1982a; 1982b).

Los seguidores de la teoría neutralista, afirman - que no todos los cambios a nivel molecular son deterministicos, sino que el azar juega un papel importante en la fijación de los alelos. Esta sería una explicación alternativa para el caso de los polimorfismos enzimáticos; y que este - existe debido a que hay una fijación al azar por deriva génica de mutantes selectivamente neutros, y observamos tal - cantidad debido a que no tienen valor selectivo y da lo mismo si uno es sustituido por otro. Esta discusión es sola - mente para el caso de la variabilidad poblacional y a nivel molecular.

Los Darwinistas ortodoxos aceptan el azar en el - origen de la variación (mutación, recombinación, etc.), y - afirman que todo cambio a nivel de expresión génica tiene - que estar determinado por la selección natural. Para una - discusión interesante sobre el papel del azar en la evolución ver (Waddington 1976a, 1976b).

Pero; ¿la acumulación de mutaciones puntuales favorecidas por la selección natural puede explicar todo el proceso evolutivo? o sea la variación poblacional, las razas - geográficas, la especiación y las grandes líneas evolutivas.

Existen autores que piensan que no (Gould, 1980) y en una forma mas moderada (Reed, 1981) proponen que la selección natural es el principal agente del cambio evolutivo pero no niegan el papel del azar. Gould (op.cit.) propone que la extrapolación extensiva de las mutaciones puntuales a todo el proceso evolutivo, además de pensar que toda característica es adaptativa y analizarla aparte sin tomar en cuenta al organismo en conjunto, es lo que ha hecho que se caiga en explicaciones circulares en ecología, genética de poblaciones y teoría evolutiva (Peters, 1976).

Gould (1980) piensa que hay diferentes niveles cualitativos en los que la selección y la variación genética operan de diferente manera y que el origen de nuevas especies es casi siempre hablando en terminos del tiempo geológico rápido (Gould y Eldredge, 1977) y a través de rearranglos del material genético en los cromosomas (Bush et. al., 1977; Garson, 1978), esto indica el valor de los trabajos cariotipicos para discriminar especies.

La conclusión obligada es que tenemos que comenzar a ver el proceso evolutivo en forma diferente, no reduccionista, con diferentes niveles cualitativos además de dejar de hacer interpretaciones evolutivas solamente a partir de frecuencias alélicas, números cromosómicos, variabilidad de un carácter, etc. en forma aislada y volver al concepto de-

organismo en biología.

La discusión anterior tuvo por objeto hacer notar que nuestras interpretaciones de los procesos evolutivos son inexactas y solamente aproximadas; es por esto que aunque la técnica demostro su bondad y que además podemos obtener ciertas conclusiones con respecto a las poblaciones; como serían las de proponer cruzas para obtener descendientes más resistentes a las condiciones severas de ciertos estos, debido a la mayor resistencia de la población de Teacapan, debemos ser cautelosos, más no pesimistas al proponer políticas que incidan sobre la economía pesquera de una región, pues hemos sido testigos de como en nombre de la Acuicultura, la ecología y el manejo de recursos bióticos se cometen errores y se malgasta el dinero de nuestro país pues este está lleno de demagogos de la ciencia.

Para concluir quisiera comentar (en tono optimista) que estamos en el umbral de una nueva revolución en el ámbito de la teoría evolutiva; la introducción de nociones tales como diferentes niveles cualitativos (jerarquía), el papel del azar, los procesos epigenéticos (Ho y Saunders 1979), además de dejar a un lado el programa adaptacionista nos dará una nueva visión de los procesos y sus mecanismos, teniendo de esta manera un cuadro más coherente de los hechos y tal vez (ahora sí) la biología llegue a ser, sino una



ciencia predictiva (en el sentido de la física) si una disciplina que permita un nivel de confianza alto al hacer con sideraciones con respecto a la dimensión temporal de los fe nómenos ecologicos, geneticos y evolutivos, además de que - estas ideas obviamente tendrán una influencia en la teoría- y la práctica de la explotación de los recursos.

## LITERATURA CITADA

- AYALA, F.J. and W.W. Anderson., 1973, Evidence of Natural Selection in Molecular Evolution. *Nature -- New Biology*. 241: 273-276.
- AYALA, F.J. and M.E. Gilpin., 1974, Gene Frequency -- Comparisons between taxa: Support for the natural selection of protein polymorphisms. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71: 4847-4849.
- ABBOTT, R.T., 1974, American seashells. The marine mollusca of the Atlantic and the Pacific coast of north America. Van Nostrand reinhold Co., New York.
- BERGER, E.M., 1973, Gene enzyme variation in three sympatric species of Littorina, *Biol. Bull*, 145-8390.
- BERGER, E.M., 1976, Heterozis and maintenance of enzyme polymorphisms, *Amer. Nat.* 110- 823-839.
- BUSH, G.L., S.M. Case, A.C., Wilson, and J.L. Patton., 1977, Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 74: 3942-3946.
- CAMPOS, G., 1982, Perfiles cromatográficos de los aminoácidos libres en bivalvos de importancia económica de las costas mexicanas, Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. Univ. Nal. Auton. de México.
- CARSON, H.L., Chromosomes and species formation, *Evolution*, 32: 925-927.
- CLARKE, B.C., 1979, The evolution of genetic diversity, *Proc. R. Soc. Lond.* 205: 453-474.
- COSTA, R. and Bisol, P.M., 1978, Genetic variability - in deep sea organisms, *Biol. Bull.* 155:125-153.
- DOBZHANSKY, T., 1969, Genetics and the origin of species, Columbia Univ. Press, New York.

- DOBZHANSKY, T., 1975, *Genética del proceso evolutivo*, Ed. Extemporaneos, México.
- DOBZHANSKY, T., 1976a, Organismic and molecular aspects of species formation. In: *Molecular Evolution*. - F. Ayala, (Ed.), Sinauer Associates inc, Sunderland Massachusetts, pp. 95-105.
- DOBZHANSKY, et. al., 1976b, *Evolution*, Freeman and Company, San Francisco.
- FISHER, R.A., 1958, *The Genetical theory of natural selection*, Dover Publications, New York.
- FUJINO, K. and N. Nagayama., 1977, Biochemical polymorphism in the Pacific oyster. Variants in myogenin and esterase. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 48: 983-988.
- GALTSOFF, P.S., 1964 The American oyster Crassostrea virginica Gmelin. *Fish. Bull.* 64:Ch. I.
- GHISELIN, M.T., 1972, *The triumph of the Darwinian method*, University of California Press, Berkeley, - Ch. VII.
- GILLESPIE, J., 1974, Polymorphism in patchy environments, *Amer. Nat.* 108: 145-151.
- GOULD, S.T., 1980, Is a new and general theory of evolution emerging, *Paleobiol.* 6: 119-130.
- GOULD, S.T., 1982a, The uses of heresy, introduction, -- In: Goldschmidt, *The material basis of evolution*, Yale, Univ. Press, New Haven.
- GOULD, S.T., 1982b, Darwinism and the expansion of evolutionary theory. *Sci.* 216: 380-387.
- GOULD, S.J. and R.C. Lewontin., 1979, The Spandrels of San Marco and the Panglossian Paradigm: a critique of the Adaptationist Programme, *Proc. R. Soc. Lond.* B205: 581-598.
- GOULD, S.J. and N. Eldredge, 1977, Punctuated equilibria: The tempo and mode of evolution reconsidered, *Paleobiol.* 3:115-151.

- HALDANE, J.B.S., 1966, The causes of evolution, Cornell-  
Univ. Press. Ithaca New York.
- HILLMAN, R.E., 1964, Chromatographic evidence of intraes-  
pecific genetic differences in the eastern oyster  
Crassostrea virginica. Syst. 13:12-18.
- HO, M.W. and P.T. Saunders., 1979, Beyond Neo-Darwinism,  
and Epigenetic approach to evolution. J. Theor.-  
Biol. 78:573-591.
- HUBBY, J.L., 1963, Protein differences in Drosophila. I.-  
Drosophila melanogaster. Genetics. 48:871-879.
- HUBBY, J.L., and R.C. Lewontin, 1966, A molecular approa-  
ch to the study of genetic heterozygosity in natu-  
ral populations. I. The number of alleles at di-  
fferent loci in Drosophila pseudoscura. Genetics  
54:577-594.
- HUXLEY, J., 1974, Evolution: The modern synthesis, Geor-  
ge Allen and Unwin. London.
- JACKSON, J.B.C., 1974, Biogeographic consequences and --  
stenotopy among marine bivalves and their evolu-  
tionary significance Amer. Nat. 108:541-560.
- JOHNSON, G.B., 1972, Evidence that enzyme polymorphisms-  
are not selective neutral, Nature New Biology. -  
237:170-171.
- JOHNSON, G.B., 1973, Importance of substrate variability  
to enzyme polymorphism, Nature New Biology. 243:  
151-153.
- JOHNSON, G.B., 1976, Genetic Polymorphism and enzyme --  
function. In: Molecular Evolution. F. Ayala (ed.),  
Sinauer Associates inc, Sunderland Massachusetts,  
pp. 46-59.
- JOHNDON, S.H.M and F.M. Utter and K. Niggol., 1972, Elec-  
trophoretic variants of aspartate amino transfera-  
se and Adductor muscle proteins in the native --  
oyster (Ostrea lurida). Anim. Blood. Grps. Bio-  
chem. Genet. 3:109-113.

- KIMURA, M., and T. Ohta., 1971a, Theoretical aspects of population genetics, Princeton, Univ. Press, New Jersey.
- KIMURA, M., and T. Ohta., 1971b, Protein polymorphism - as a phase of molecular evolution, Nature. 229: 467-469.
- KIMURA, M., 1982, Teoría neutralista de la evolución molecular, Sci. Amer. 40-46-55.
- KING, L.J., and T.H. Jukes., 1969, Non-Darwinian Evolution, Science 164: 788-798.
- KOEHN, R.K. and J.B. Mitton., 1972, Population genetics of marine pelecypods. I. Ecological Heterogeneity and evolutionary strategy at an enzyme locus, -- Amer. Nat. 106:47-56.
- LAEMMLI, U.K., 1970, Cleavage of structural proteins -- during the assembly of the head of Bacteriophage T4. Nature 227:680-685.
- LEWONTIN, R.C., and J.L. Hubby. 1966, A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of Drosophila pseudoscura. Genetics. 54:595-609.
- LEWONTIN, R.C., 1979, La base genética de la evolución- Ed. Omega. Barcelona.
- LEVINTON, J., 1973, Genetic variation in a gradient of environmental variability: Marine bivalvia (Mollusca). Science 180:75-76.
- LEVINS, R., 1968, Evolution in changing environment, -- Princeton Univ. Press. Princeton New Jersey.
- MATHER, K., 1973, Statistical analysis in biology, -- science paperbacks, Chapman and Hall, London.
- MAYR, E., 1963, Animal species and evolution, Belknap - Press Harvard Massachusetts.
- McDONALD, J.F., and F.J. Ayala., 1974, Genetic response to environmental heterogeneity. Nature. 250:572-574.

- NEI, M., 1975, Molecular population genetics and evolution, North-Holland, Amsterdam.
- NEVO, E., 1978, Genetic variation in natural populations: Patterns and theory. Theor. Pop. Biol. 13: 121-177.
- NEWKIRK, G.F., and R.W. Doyle., 1979, Clinal variation at an esterase locus in Littorina saxatilis and L. obtusata, Can. J. Gen. Cytol. 21:505-513.
- NUMACHI, K., 1962, Serological studies of species and race in oysters. Amer. Nat. 96:211-217.
- OHTA, T., 1974, Mutational pressure as the main cause of molecular evolution and polymorphism. Nature 252: 351-354.
- PETERS, R.H., 1976, Tautology in evolution and ecology. Amer. Nat. 110:1-12.
- PIANKA, E.P., 1970, On r and K selection, In: Readings in Sociobiology T.H. Clutton-Brock y P.H. Harvey. (Ed.). Freeman and Company, San Francisco. pp. 45-51.
- POWELL, J.R., 1971, Genetic Polymorphism in varied environments, Science, 174:1035-1036.
- REED, E.S., 1981, The Lawfulness of natural selection. Amer. Nat. 118:61-71
- RODRIGUEZ ROMERO, F., A. Laguarda and M. Uribe. 1979a., Comparative analysis of the karyotypes of two oysters species of the genus Crassostrea from México: C. virginica and C. corteziensis. Ann. Cent. --- Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Auton. de México. 6:19-24.
- RODRIGUEZ ROMERO, F., M. Uribe and A. Laguarda., 1979b, The karyotypes of Crassostrea corteziensis, Hertlein 1951. (Mollusca Ostreidae) An. Cen. --- Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Auton. de México, 6:19-24.

- RODRIGUEZ ROMERO, F., et. al., 1979c, The kariotype of -  
Crassostrea rhizophorae, Guilding 1821. Jap. --  
Jour. Malac. (Venus) 38:135-140.
- RODRIGUEZ ROMERO, F., et. al., 1979d, Distribution of -  
"G" bande in the kariotype of Crassostrea virgi-  
nica, Jap. Jour, Malac. (Venus). 38:180-184.
- RODRIGUEZ ROMERO, F., M. Uribe and A. Iaguarda., 1978, --  
Cytogenetic study of an oyster population of the  
specie Crassostrea virginica, gmelin, from coast  
of Tabasco, México, Jap. Jour. Malac. (Venus).  
37:83-86.
- SELANDER, R.K., 1976, Genic variation in natural popula  
tions. In: Molecular Evolution. F. Ayala, --  
(Ed.), Sinauer Associates inc, Sunderland Massa-  
chusetts, pp. 21-45.
- SELANDER, R.K., and D.W. Kaufman., 1973, Genic Variabi  
lity and strategies of adaptation in animals, --  
Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 70:1875-1877.
- SCHOPF, T. J. M., 1973, Protein polymorphism of the hy-  
bridizing seastars Asterias forbesi and Asterias  
vulgaris and implications for their evolution, -  
Bioll. Bull. 145:589-597.
- SIMPSON, G.G., 1953, The major features of evolution, -  
Simon and Shuster, New York.
- SIMS, M., 1965, Methods for detection of enzymatic ac -  
tivity after electrophoresis on polyacrylamide -  
Gel in Drosophila species. Nature 207:757-758.
- SOKAL, R.R., and F.J. Rohlf., 1969, Biometry, Freeman--  
and Company San Francisco.
- SWANK, R.T., and K.D. Munkres., 1971, Molecular weight-  
analysis of oligopeptides electrophoresis in --  
polyacrylamide Gels with sodium dodecyl sulfate.  
Anal. Biochem. 39:462.
- TORIGOE, K., 1978, Electrophoretic variants of adductor  
muscle proteina in Crassostrea gigas. Jap. Jour.  
Malac. (Venus) 37:177-183.

- WADDINGTON, C.H., 1976a, Las ideas básicas de la Biología. In: C.H. Waddington. (Ed.), Hacia una Biología Teórica, Alianza Editorial, Madrid.
- WADDINGTON, C.H., 1976b, ¿Depende la evolución del comportamiento al azar? In: C. H. Waddington. -- (Ed.), Hacia una Biología Teórica, Alianza Editorial, Madrid.
- WADA, K. T., 1975, Electrophoretic variante of leucin - aminopeptidase if tge Haoabese pearl oyster, -- Pinctada fucata (Gould), Nat. Pearl. Res. Lab. - 19:2152-2156.
- WILKINS, N.P., and N.F. Mathers., 1973, Enzime Polymorphism in the European oyster. Ostrea edulis. -- Animal. Blood. Grps. Biochem. Genet. 4:41-47.
- ZAR, J.H., 1974, Biostatistical analisis, Prentice-Hall, Englewood Cliffs.



JOB DEF= \*\*\*\*\*  
PROC DEF= STAT  
DATA DEF= TFCAP  
ANALYSIS= STAT  
DATA SET= 1

RF OF TEACAPAJ

OBSERVATIONS= 279 READ, 279 PROCESSED, 0 REJECTED. SUB WEIGHTS= 279

PAGE 1  
DATE 7.06  
00/10/82

VARIABLE (X)                    RF  
SAMPLE SIZE (N)                279  
SUM OF X                        9655700  
SUM OF X\*\*2                    4081230  
MEAN                            034600  
VARIANCE (UNBIASED)            003055  
STANDARD DEVIATION            017477  
COEFF OF VARIATION            05060  
MINIMUM VALUE                 003270  
MAXIMUM VALUE                 071670  
TOLERANCE OF RANGE            009990  
95.00 PERCENT CONFIDENCE INTERVAL FOR MEAN --  
LOWER LIMIT                    032265  
UPPER LIMIT                    036935  
95.00 PERCENT CONFIDENCE INTERVAL FOR VARIANCE --  
LOWER LIMIT                    003372  
UPPER LIMIT                    004705

\*\*\* 1 DATA INPUT ERRORS RECORDED



JOB DEF= \*\*\*\*\*  
PROC DEF= STAT  
DATA DEF= SAHLLA  
ANALYSIS= STAT  
DATA SET= 1

RF DE SAN LLAS

OBSERVATIONS: 356 READ, 356 PROCESSED, 0 REJECTED, 356 WEIGHTS= 356

PAGE 1  
M:STIS 7.06  
09/07/82

VARIABLE (X)	RF
SAMPLE SIZE (N)	356
SUM OF X	122.69879
SUM OF X**2	61.34415
MEAN	0.34446
VARIANCE (UNBIASED)	0.05484
STANDARD DEVIATION	0.23209
COEFF OF VARIATION	0.67572
MINIMUM VALUE	0.06100
MAXIMUM VALUE	0.96190
TOLERANCE OF RANGE	1.00000
95.00 PERCENT CONFIDENCE INTERVAL FOR MEAN --	
LOWER LIMIT	0.32030
UPPER LIMIT	0.36853
95.00 PERCENT CONFIDENCE INTERVAL FOR VARIANCE --	
LOWER LIMIT	0.04797
UPPER LIMIT	0.06320

JOB DEF# \*\*\*\*\*  
 PROC DEF# UNIVAR  
 ANALYSIS# SAMPLA  
 DATA SET# INIVAR 1

RF DE RAN #LAS

OBSERVATIONS: 356 READ, 356 PROCESSED, 0 REJECTED, BIN HEIGHTS 356

PAGE 1

PAGE# 7  
 09 08 78

VALUE	RF100		RF
	FREQ	REL FREQ	
0.000	299	0.840	
0.000	57	0.160	
0.001	0	0.000	
0.002	0	0.000	
0.004	0	0.000	
0.006	0	0.000	
0.008	0	0.000	
0.010	0	0.000	
0.012	0	0.000	
0.014	0	0.000	
0.016	0	0.000	
0.018	0	0.000	
0.020	0	0.000	
0.022	0	0.000	
0.024	0	0.000	
0.026	0	0.000	
0.028	0	0.000	
0.030	0	0.000	
0.032	0	0.000	
0.034	0	0.000	
0.036	0	0.000	
0.038	0	0.000	
0.040	0	0.000	
0.042	0	0.000	
0.044	0	0.000	
0.046	0	0.000	
0.048	0	0.000	
0.050	0	0.000	
0.052	0	0.000	
0.054	0	0.000	
0.056	0	0.000	
0.058	0	0.000	
0.060	0	0.000	
0.062	0	0.000	
0.064	0	0.000	
0.066	0	0.000	
0.068	0	0.000	
0.070	0	0.000	
0.072	0	0.000	
0.074	0	0.000	
0.076	0	0.000	
0.078	0	0.000	
0.080	0	0.000	
0.082	0	0.000	
0.084	0	0.000	
0.086	0	0.000	
0.088	0	0.000	
0.090	0	0.000	
0.092	0	0.000	
0.094	0	0.000	
0.096	0	0.000	
0.098	0	0.000	
0.100	0	0.000	
0.102	0	0.000	
0.104	0	0.000	
0.106	0	0.000	
0.108	0	0.000	
0.110	0	0.000	
0.112	0	0.000	
0.114	0	0.000	
0.116	0	0.000	
0.118	0	0.000	
0.120	0	0.000	
0.122	0	0.000	
0.124	0	0.000	
0.126	0	0.000	
0.128	0	0.000	
0.130	0	0.000	
0.132	0	0.000	
0.134	0	0.000	
0.136	0	0.000	
0.138	0	0.000	
0.140	0	0.000	
0.142	0	0.000	
0.144	0	0.000	
0.146	0	0.000	
0.148	0	0.000	
0.150	0	0.000	
0.152	0	0.000	
0.154	0	0.000	
0.156	0	0.000	
0.158	0	0.000	
0.160	0	0.000	
0.162	0	0.000	
0.164	0	0.000	
0.166	0	0.000	
0.168	0	0.000	
0.170	0	0.000	
0.172	0	0.000	
0.174	0	0.000	
0.176	0	0.000	
0.178	0	0.000	
0.180	0	0.000	
0.182	0	0.000	
0.184	0	0.000	
0.186	0	0.000	
0.188	0	0.000	
0.190	0	0.000	
0.192	0	0.000	
0.194	0	0.000	
0.196	0	0.000	
0.198	0	0.000	
0.200	0	0.000	

JOB NAME \*\*\*\*\*  
 PROC DEF UNIVAR  
 DATA DEF TFACAP  
 ANALYSIS UNIVAR  
 DATA SET 1

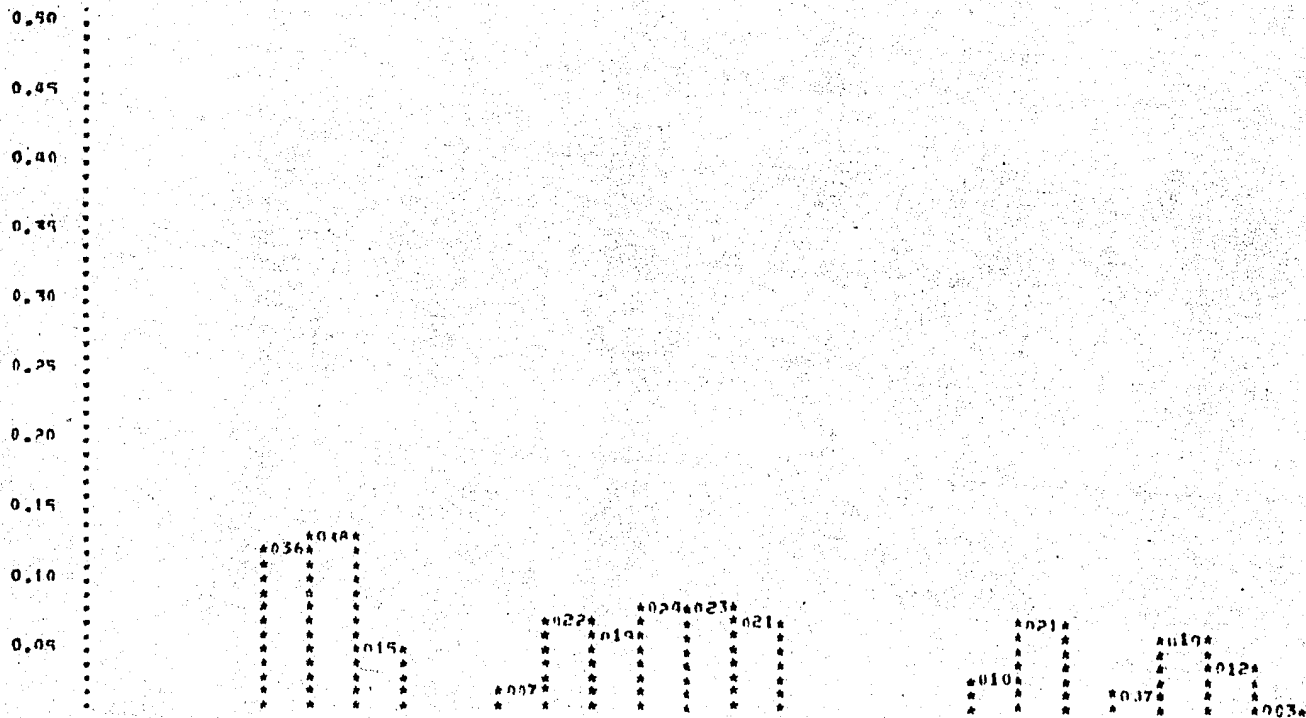
RF DF TEACAPAJ

OBSERVATIONS: 279 READ, 279 PROCESSED, 0 REJECTED. SUB MIGHT: 279

PAGE 2

DATE 7-06  
 89/10/82

HISTOGRAM FOR 95100



JOB DEF \*\*\*\*\*  
 PROC DEF UNIVAR  
 DATA DEF SAMP  
 ANALYSIS UNIVAR  
 DATA SET 1

RF DE SAN BLAS  
 OBSERVATIONS: 356 READ, 356 PROCESSED, 0 REJECTED, 810 HEIGHTS= 356

HISTOGRAM FOR RF100

