

03067

2 ej. 2



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA
COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS
PROFESIONAL Y DE POSGRADO

PROYECTO ACADÉMICO
ESPECIALIZACIÓN, MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
DEL MAR

ESTUDIO ELECTROFORÉTICO DE CUATRO ESPECIES
DE LA FAMILIA GOBIIDAE (Pisces: Perciformes).

T E S I S

Que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR
(Oceanografía Biológica y Pesquera)

presenta

ENRIQUE AYALA DUVAL

México, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

CONTENIDO

RESUMEN	4
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	5
ANTECEDENTES	6
MATERIAL Y METODOS	14
RESULTADOS Y DISCUSION	25
AGRADECIMIENTOS	48
LITERATURA CITADA	49

RESUMEN

En el presente estudio se hace notoria la necesidad de contar con alternativas en la identificación de especies icticas que se encuentran en situaciones críticas, tales como las del ictioplancton, donde es notoria la falta de descripciones específicas, o aquellas especies que se han manipulado genéticamente, al grado de que han perdido su identidad taxonómica o bien aquellas especies que fueron separadas por el Istmo de Panamá y que comparten características morfométricas, dando lugar a sinonimias y confusiones, haciéndose evidente la necesidad de una profunda revisión taxonómica de tales grupos.

Con el propósito de contribuir a resolver al menos una parte de los problemas señalados, se hace el estudio electroforético de cuatro especies de Gobiidos: *Gobionemus maculatus*, *Gobionellus miclodon*, *Damnitafca latifrons* y *D. maculatus*. Se establecen los patrones electroforéticos de suero de músculo y parvalbúminas para las cuatro especies señaladas y además, los patrones de hemoglobinas para las dos especies de *Damnitafca*. En todas las técnicas se utilizó gel de poliacrilamida al 10% en placa.

Con base en los patrones obtenidos, se determinó el coeficiente de distancia taxonómica promedio (DTP) para comparar la similitud bioquímica entre las especies; los valores obtenidos señalaron que las especies taxonómicamente más cercanas son: *Gobionemus maculatus* y *Gobionellus miclodon*; *Damnitafca latifrons* se relacionó a las anteriores y por último *D. maculatus* se anexa a las precedentes con una DTP mayor.

Aunque cada uno de los sistemas proteicos utilizados ofrece una diferenciación específica, se encontró que las parvalbúminas presentaron menor variación en los patrones electroforéticos de las cuatro especies, por lo que se recomienda el empleo de este sistema proteico en futuras investigaciones.

INTRODUCCION

Las lagunas costeras como ecosistemas potencialmente útiles a la economía de México por su productividad, han sido objeto de estudio por décadas desde varios puntos de vista.

Según Lankford (1977), en los litorales mexicanos se encuentran unas 125 lagunas costeras, en las cuales los recursos pesqueros han sido explotados tradicionalmente para consumo local, nacional o internacional, además de emplearse muchas especies consideradas como fauna de acompañamiento en la elaboración de alimentos balanceados para especies domésticas. Lo anterior ha conducido a los especialistas a tratar de conocer el potencial de explotación de algunas especies icticas a través de parámetros poblacionales y otros utilizados en pesquerías (Cushing 1975). Más recientemente, estas evaluaciones se han hecho a partir de huevos y larvas de peces -ictioplánton- (Chavanco *et al.* 1984 y Tanaka 1974).

Por otro lado, el déficit del abastecimiento alimentario ha llevado a la necesidad de buscar alternativas de producción piscícola mediante la acuicultura en agua dulce; posiblemente el mejor ejemplo de lo anterior es el auge que han tenido las especies comúnmente conocidas como tilapias, truchas y algunas especies de invertebrados, en las cuales se han hecho esfuerzos por obtener individuos con ciertas cualidades genéticas que resultan por ejemplo en un mejor tamaño, cierta coloración o bien mejorar o incrementar su resistencia a algunas enfermedades; cualidades que son inducidas mediante el manejo genético, es decir cruza, retrocruza,

hibridaciones, inseminaciones y ginogénesis artificiales (Nagy et al. 1979, Purdon 1969 y 1972, Purdon y Lincoln 1974 y Stanley y Sneed 1973).

Por ahora se han contemplado básicamente dos aspectos: la explotación-evaluación de los recursos pesqueros y el manejo genético de algunas especies; ambos aspectos se enfrentan al problema del reconocimiento específico de los individuos en estudio, lo cual puede ser en menor o mayor grado dependiendo de la especie en cuestión; por ejemplo, en el aspecto de evaluación de recursos pesqueros, los estudios ictioplanctónicos son de relevancia, sin embargo el reconocimiento a nivel específico de algunas de las poblaciones es sumamente difícil, principalmente por la carencia de descripciones que conduzcan a la identificación plena de una especie determinada. Para tener una idea de la magnitud de este problema, y la importancia de la atención que se le presta, se mencionará que Ahlstrom (1975) ha propuesto dos caminos a seguir: uno consistiría en capturar los estadios larvarios "difíciles para identificar" y criarlos en acuarios, hasta que desarrollen las características morfométricas mínimas necesarias para su identificación; el segundo camino a seguir sería a partir de adultos plenamente identificados, realizar fecundaciones artificiales para lograr el desarrollo embrionario (huevecillos) y larvario y conocer de esta manera en tales etapas, las características necesarias para hacer la identificación por comparación o bien la descripción del estado larvario desconocido.

Desde luego, ambas alternativas, implican otros aspectos que pueden convertirse en problemas o derivar en situaciones no previstas, principalmente en lo que se refiere a la fisio-etología de la reproducción o fisiología del crecimiento, que si no son conocidas, será prácticamente imposible realizarlas adecuadamente. Otro aspecto a considerar con relación al punto anterior, es que en la actualidad existen grupos de especies icticas cuya sistematía aún es incierta, principalmente de las especies que han sido separadas por alguna barrera como es el Istmo de Panamá, que muestran características morfológicas muy similares y es necesaria una revisión más profunda como lo señala Castro-Aguirre (1978) y Grant (1987), este último autor considera que la electroforesis representa una valiosa herramienta que puede ayudar a la reclasificación de estos peces.

Por otro lado en el aspecto del manejo genético, se tiene que en algunas especies, por ejemplo en las tilapias ha habido fusión o mezcla de características morfofisiológicas de algunos individuos así obtenidos, por lo que la situación taxonómica de las especies de este grupo de ciclidos es aún incierta (Vera-Muñoz 1985 y McAndrew y Majumdar 1983). Ha sido principalmente este segundo aspecto, es decir el manejo genético de las especies lo que condujo a buscar a través de la citogenética, mediante el estudio de los cromosomas y sus cariotipos, la manera de conocer los desarreglos genéticos ocasionados (Morhead 1960, Casperson 1968 y Denton y Howell 1969 citados por Torres-Padilla 1982) y, habiéndose logrado

en algunos casos observar semejanzas o diferencias entre cariotipos intra o interespecíficos.

Más recientemente se han utilizado las técnicas electroforéticas para ir más a fondo en el estudio del genotipo de las especies, debido a que estas técnicas tienen su principio en la separación diferencial de proteínas sometidas a un campo eléctrico en un medio de soporte, las cuales son el producto neto de la expresión genética; así Tsuyuki *et al.* (1965), mencionan que las proteínas son las unidades morfológicas principales del cuerpo de un organismo a nivel molecular de organización y por ello, son fuente de información genética y filogenética: los músculos, huesos, pelo, órganos, piel y otras estructuras. Lo anterior ha sido el principio básico de estudios electroforéticos en muchas especies, habiéndose encontrado que se pueden diferenciar entre sí un grupo de organismos a diferentes niveles taxonómicos, siendo además posible conocer aspectos del estado fisiológico de un conjunto de ellos, ya que el metabolismo determina algunos cambios como adaptaciones fisiológicas al ambiente (Sharp 1969), que pueden consistir en el tipo y configuración o concentración molecular de algunas proteínas (Brunori 1975 y Pérez 1979).

OBJETIVOS

En función de lo anteriormente expuesto, se considera importante contribuir a resolver una parte de los aspectos mencionados, mediante los siguientes objetivos en este estudio:

1. Conocer los patrones electroforéticos de las siguientes especies en estado adulto:

Gobionomus maculatus *
Gobionellus micradon *
Damnitator latifrons *
Damnitator maculatus **

*Laguna de Tres Palos, Guerrero.

**Laguna de Alvarado, Veracruz.

2. Realizar el análisis electroforético de las hemoglobinas para el Género *Damnitator*, lo cual tiene como propósitos:
 - a) Contribuir a precisar el status taxonómico de las poblaciones del Pacífico (*D. latifrons*) y del Golfo de México (*D. maculatus*) a partir de una base más amplia de comparación electroforética.
 - b) Establecer el patrón electroforético de un sistema

proteico (como son las hemoglobinas), que permita conservar con vida a los organismos analizados, dando así la pauta para experimentar genéticamente con estas especies que son de relativa importancia económica.

- c) A partir de los patrones electroforéticos obtenidos, determinar el sistema proteico más adecuado para su utilización como "patrón electroforético de referencia", así como el coeficiente de distancia taxonómica promedio (DTP) para comparar la similitud genética entre las cuatro especies, con énfasis en el Género *Damilites*.

ANTECEDENTES

Los peces de la Familia Gobiidae se han caracterizado por su numerosidad en la comunidad ictioplanctónica y por ello, el papel ecológico que desempeñan puede ser considerado de importancia, ya que junto con las larvas de la Familia Engraulidae pueden llegar a constituir entre el 70 y el 90% de la comunidad (Ayala-Duval 1980, Flores-Coto y Méndez-Vargas 1982 y Ferreira-González y Acal-Sánchez 1984). Ambas Familias de peces en esta etapa de vida, presentan una gran dificultad para su identificación específica, tanto por la carencia de descripciones de los estadios larvarios como por compartir,

a manera de sobreposición algunas características morfológicas empleadas en su descripción.

Se puede considerar que este motivo expuesto, además de contar con aspectos técnicos alternativos en la identificación de especies ictiológicas, hace de gran interés el analizar electroforéticamente algunas de las especies de góbidos, para sentar precedentes en la posible resolución del problema de identificación mencionado. También resulta de gran interés analizar esta Familia en función de lo expuesto en el trabajo de Maldonado-Monroy *et al.* (1985), en cuanto a los cariotipos determinados en los góbidos *Domitatus maculatus* y *Gobiomorus dormitor* comparativamente con el cariotipo de *Domitatus latifrons* estudiado por Uribe-Alcocer *et al.* (1983) en donde *Domitatus maculatus* y *D. latifrons* presentan cariotipos casi idénticos, recomendando su estudio electroforético.

Castro-Aguirre (1978) revisa la situación taxonómica de las poblaciones del Género *Domitatus* del Pacífico y del Golfo de México y por su gran parecido, prefiere unirlos de manera provisional en una sola especie (*D. maculatus*) y señala además que Ginsburg en 1953 separa a la población del Pacífico como una subespecie denominándola como *D. latifrons mexicanus* en el presente estudio se prefiere distinguirlas como *D. maculatus* para el Golfo de México y como *D. latifrons* para la población del Pacífico. Cabe señalar que, los peces adultos de *Domitatus maculatus* tienen una relativa importan

cia comercial principalmente en Alvarado Ver., donde los lugareños explotan la hueva para consumo local, desechando el resto del animal en virtud de que su talla promedio oscila en unos 10 cm (LT) por lo que su carne no puede ser aprovechada; *D. latitans* se usa para consumo humano pudiéndose obtener filetes, ya que su tamaño promedio es de unos 30 cm (LT).

La electroforesis como un método de separación, se basa en las propiedades eléctricas de los componentes de una mezcla, generalmente de alto peso molecular como proteínas, enzimas, lipoproteínas, hemoglobinas y algunas sustancias de bajo peso molecular, tales como aminoácidos; también es posible apartar mediante esta técnica azúcares, siempre y cuando estén asociados a un electrolito. Así entonces es posible separar a partir de una mezcla de moléculas, cada estructura individual en función de su carga eléctrica neta. Cuando se coloca la mezcla en un medio de soporte como lo es el gel de poliacrilamida y se le aplica una corriente eléctrica, el resultado será que moléculas con carga neta positiva (+) viajen hacia el cátodo (terminal eléctrica negativa) y aquellas con carga neta negativa (-) se dirijan hacia el ánodo (terminal eléctrica positiva); lo obtenido de esta manera es una placa que recibe el nombre de electroferograma.

Según Starbarch (1977), el número de bandas proteínicas en el electroferograma y su velocidad de migración en el campo eléctrico, dependen de su estructura, diferenciada de acuerdo a la información genética codificada por el DNA, y por es

ta razón la separación electroforética de las proteínas que reflejan la estructura de la proteína se incluye en la sistemática bioquímica.

El inicio de las técnicas electroforéticas fue aproximadamente en la década de los 50's usando papel como medio de soporte; de ahí hasta 1970 no presentó adelantos notables. Cuando el uso del papel fue decreciendo, se sustituyó por celulosa representando una disminución en el tiempo de proceso.

Actualmente se emplean como medios de soporte: agar, almidón o gel de poliacrilamida, dependiendo de los objetivos y principalmente, del grado de resolución que se desea, además de una gran variedad de modalidades en el proceso electroforético, que permiten un estudio más profundo, más elaborado y por consiguiente más caro y con el requerimiento de personal especializado, así como de aparatos más sofisticados.

Las especies icticas han sido abordadas en estudios electroforéticos mediante el análisis de varios sistemas de proteinas tales como enzimas: Enolasa (Tsuyuki y Wold 1964), Lactato deshidrogenasa (Chua et al. 1978); varias isoenzimas (Op't Hof et al. 1982); varias enzimas -compilación de varios autores (Shaw y Prasad 1970)- y sistemas proteicos en los ojos de los peces (Smith y Gilman 1982); aunque Tsuyuki et al. (1965) indican que cualquier estructura de un individuo puede ser fuente de información genética, el grado de di

facultad variará de acuerdo al tipo de estructura de la cual se analicen las proteínas ya que está en función de la técnica necesaria, las posibilidades para efectuarla y sobre todo, de los objetivos que se persigan. Así, se podrá decir que el análisis electroforético de músculo y componentes sanguíneos, resultan relativamente menos complejos en el aspecto técnico, pero no menos eficientes que aquéllos en que se requieren procedimientos más elaborados y costosos, como podría resultar la separación y purificación de un extracto proteico determinado.

Tsuyuki y sus colaboradores, posiblemente son los científicos que más experiencia tienen en el análisis electroforético de las proteínas de músculo y hemoglobinas de los peces; entre algunas de las especies que estos autores han trabajado, se encuentran varias del salmón *Oncorhynchus* (Tsuyuki *et al.* 1962) y varias de la familia *Catostomidae* (Tsuyuki *et al.* 1967), quienes analizan también individuos de diferentes niveles taxonómicos como Clases (Tsuyuki *et al.* 1965). En estos estudios se determina que tanto las proteínas de músculo como las hemoglobinas, son caracteres de diagnóstico específico.

Starmarch (1977) realiza un estudio electroforético en gel de poliacrilamida de las proteínas del suero de sangre de siete familias de carpa, y encuentra que cada familia presenta un patrón de bandas con el cual es posible distinguir las entre sí. Abrams *et al.* (1983) proponen ya el uso de

patrones esquemáticos para la identificación de especies ficticias mediante electroenfoque (una modalidad de la electroforesis), describiendo los patrones de cincuenta y tres especies pertenecientes a las Familias: Anarichadidae, Anguillidae, Aridae, Atherinidae, Balistidae, Berycidae, Corangidae, Clupeidae (3 spp.), Congridae, Cyprinidae, Engraulidae, Gadidae (9 spp.), Lophiidae, Mugilidae, Mullidae, Pleuronectidae (12 spp.), Salmonidae (2 spp.), Scomberosocidae, Scombridae, Scorpaenidae, Serranidae, Sparidae, Trachinidae, Triglidae y Zeidae, además describen tres especies de condriictios de las Familias: Lamnidae, Scyliorhinidae y Squalidae; indican estos autores que a pesar del gran número de especies, los patrones son adecuados para su reconocimiento y que las variaciones intraespecíficas son de menor importancia en el contexto general de los patrones.

También se han hecho experimentos de hibridación analizando las proteínas de la F_1 comparativamente con las de los padres; así Tsuyuki y Roberts (1965) entrecruzan especies de los Géneros *Salmo*, *Salvelinus* y *Callivomer* encontrando que muchas veces los híbridos presentan en sus patrones electroforéticos combinaciones de bandas que en los padres son únicas, es decir si uno de los patrones presenta una banda "A" y el otro una banda "B", el híbrido presenta ambas: "AB"; también estos autores mencionan que se ha encontrado que muchas especies descritas como nuevas, después de un análisis electroforético han resultado ser híbridos, ejemplificando con las siguientes especies: *Ipomés mayanus* proviene de la

crusa entre *Lepomis cyanellus* y *Lepomis gibbosus*; *Lepomis* *luchurus* proviene de la crusa de *Lepomis macrochilus* y *Lepomis cyanellus*.

Asimismo, los métodos electroforéticos son ahora comunmente usados para detectar hibridaciones naturales en peces, muchos estudios han demostrado la utilidad de las técnicas para tal efecto, como Abramoff et al. (1968), quienes demuestran que el poecílido *Poecilia formosa* proviene de la crusa entre *P. mexicana* y *P. latipinna*, mediante el número de bandas de albúmina que presentan: *Poecilia mexicana* y *Poecilia latipinna* cuentan con sólo una banda de albúmina, mientras que *P. formosa* presenta dos; además indican los autores que el hecho de que se presenten dos bandas de albúmina es muy raro entre los vertebrados. Cabe hacer mención que *Poecilia formosa* es una especie compuesta de individuos hembras que utilizan para su reproducción machos de *P. mexicana* o de *P. latipinna* pero únicamente en el aspecto ginogenético, es decir, los espermatozoides sólo intervienen en la activación del óvulo sin aportar material cromosómico (Hubbs y Hubbs 1932) entonces, como no hay aporte de cromosomas por parte del macho, toda la descendencia resulta ser femenina (Houillon 1972).

Munilla y Matallanas (1979) estudian electroforéticamente en gel de poliacrilamida las proteínas musculares de tres especies del género *Raja*: *R. polystigma*, *R. montagu* y *R. brachyura* y obtienen electroferogramas que permiten diferen-

ciar las tres especies, ya que como indican los mismos, que éstas son muy similares y fácilmente confundidas.

En el análisis de los diferentes sistemas proteicos, los investigadores han encontrado que una especie puede presentar patrones diferentes, lo cual ha sido explicado como polimorfismo; ejemplo de lo anterior es lo señalado por varios autores como Morgan y Ulanowicz (1976) que estudiaron las proteínas del músculo de Mnemidía menidia y encontraron tres patrones electroforéticos y señalan que, probablemente sean dos alelos codominantes los que controlan genéticamente dichos fenotipos; Russell y Jeffrey (1979) estudian las transferrinas de la trucha: Cynoscion Azgallia separadas del suero de sangre con rivanol, con éstas se encontraron tres patrones de transferrinas, que según los autores pueden ser el resultado de la acción de dos alelos codominantes presentes en un simple gene. Por otro lado, Guillensten et al. (1980) indican que la variabilidad de los patrones sugieren el número de alelos.

Allendorf y Utter (1979) indican que la variación en la expresión proteica, refleja algo más que variaciones mendelianas, como pueden ser las causadas por: a) cambios ontogénicos de expresión génica, b) cambios que reflejan diferencias ambientales como T°C, S°/‰ o mortalidad, c) cambios que resultan de la disección y/o procedimiento de extracción de la muestra y d) cambios producidos por el tiempo de almacenaje; tales aspectos deben sin duda, ser considerados en

todo procedimiento de análisis electroforético para la adecuada interpretación de los electroferogramas obtenidos.

Por último Vera-Muñoz (1985) estudió cinco sistemas protéicos de los ciclidos *Saethothenodon mossaambicus* y *Saethothenodon moanatum* y encontró que las hemoglobinas y parvalbúminas presentan patrones electroforéticos de carácter específico y el híbrido F_1 obtenido de la cruce de las especies anteriores, presenta bandas intermedias originadas por la interacción genotípica de los progenitores.

MATERIAL Y METODOS

Colecta y transporte de organismos:

Se realizaron colectas en la Laguna de Tres Palos, Gro. y en la Laguna de Alvarado, Ver., en la primera laguna se colectaron las especies: *Gobionellus microndon*, *Doanilata latigona* y *Gobionomus maculatus* y en la segunda *Doanilata maculatus*; las capturas se efectuaron mediante la utilización de un "chinchorro" con un total de 51, 26, 36 y 27 individuos respectivamente.

Los peces se transportaron a la Ciudad de México en bolsas de plástico con agua del lugar de colecta y aire inyectado, con el objeto de mantener vivos a los peces; en el laboratorio, los animales se colocaron en peceras previamente

acondicionadas; asimismo, se hicieron los preparativos electroforéticos para obtener las muestras de los individuos lo más pronto posible.

Las técnicas electroforéticas suelen llevarse a cabo en gel de almidón o poliacrilamida o bien poliacrilamida preparada para electroenfoque, pero lo importante hasta ahora es que en todos los trabajos citados y en muchos otros, se han logrado obtener patrones electroforéticos con los cuales se diferencian los grupos taxonómicos entre sí o bien, se esclara recen las relaciones existentes entre las especies. Para la elaboración del presente trabajo, se considera que el gel de poliacrilamida proporciona una resolución de muy buena calidad para los propósitos perseguidos.

Reactivos utilizados:

En la separación de las proteínas, se usaron como medio de soporte geles de poliacrilamida al 10%. Los reactivos empleados fueron: acrilamida (Merck-Schuchardt), bis-acrilamida (Sigma), heparina (de la mucosa intestinal de cerdo -Sigma-), Comassie blue R-250 (BDH Chemicals), persulfato de amonio (Baker Analyzed); las soluciones amortiguadoras utilizadas fueron las siguientes: tris-glicina pH 8.9 (cátodo) y tris-HCl pH 8.1 (ánodo).

Métodos:

- a). Preparación de las muestras: Se analizaron los siguientes sistemas de proteínas: suero de músculo, parvalbúmi-

nas y hemoglobinas. las técnicas que se siguieron para su preparación fueron las empleadas por Vera-Muñoz (1985).

a.1. Hemoglobinas. El empleo de este sistema proteico se aplicó sólo al Género *Damiflata*, teniendo como finalidad ampliar a tres, los sistemas proteicos de análisis electroforético para contar con un apoyo más amplio para profundizar sobre el aspecto de la sinonimia señalada por Castro-Aguirre (1978) para *D. latiflata* (Pacífico) y *D. maculatus* (Golfo de México). Cabe aclarar que, el empleo de dicho sistema proteico permite después de su análisis man tener con vida a los organismos utilizados, dado que ambas especies son explotadas comercialmente en sus respectivas zonas de distribución y por ser ad más organismos fácilmente adaptables a condiciones experimentales, resultan por lo tanto idóneos para efectuar con ellos experimentos de manejo genético. Para realizar el análisis de hemoglobinas, la san gre se extrajo de la vena principal caudal de los peces vivos con una jeringa de 1 ml de capacidad con aguja de 25 X 16, con aproximadamente 0.5 ml de solución heparinizada (solución de NaCl al 2.5% en agua destilada con cinco gotas de heparina). Poste riormente, las muestras se procesaron de acuerdo a la técnica siguiente: Se centrifugó a 1600 rpm durante un periodo de 10 min; al botón formado, se le separó y se le añadió una solución de NaCl en agua

destilada al 2.5%, agitándolo en un vértex hasta ob tener una solución homogénea, la cual se centrifugó nuevamente; esta operación se llevó a cabo tres veces; posteriormente, al botón se le agregó agua fría a fin de lisar las células; se agregaron posteriormente unas gotas de solución antioxidante (de 5 a 10 ml de la solución amortiguadora tris-glicina pH 8.9, más un ml de mercaptoetanol, más un gramo de hidrosulfito de sodio $-Na_2S_2O_4-$) más CO_2 . Dada la facilidad de oxidación de las hemoglobinas, se procedió a efectuar su corrimiento electroforético lo más pronto posible, ya que Sharp (1969) hace un estudio electroforético de la hemoglobina de varias especies de atunes entre los que se incluyen *Thunnus albacares*, *Thunnus thynnus*, *Thunnus alalunga*, *Thunnus obesus* y *Katsuwonus pelamis*; él indica que las muestras de sangre se mantuvieron a $-70^{\circ}C$, y ob tuvo resultados sin variación en los análisis electroforéticos, desde que la muestra es fresca hasta los cuatro meses de almacenamiento.

Para la realización de este estudio, no hubo posibilidad de almacenar las muestras a $-70^{\circ}C$, pero sí a $-5^{\circ}C$ por lo que se hicieron varios corrimientos: con la muestra fresca, 24 hrs más tarde y 30 días después para ver si había ocurrido algún cambio en los electroferogramas obtenidos.



FIGURA 1. Area de disección para la obtención de las muestras de suero de músculo y parvalbúminas. Los ejemplares que se muestran pertenecen a la especie *Gobionotus vacillatus*.

a.2. Suero de músculo y parvalbúminas. Una vez obtenidas las placas electroforéticas de las hemoglobinas, se procedió a sacrificar a los organismos, de los cuales se obtuvieron las muestras de músculo, de la siguiente manera: A un área de aproximadamente 1.5 cm sobre la parte media lateral del pedúnculo caudal, se quitaron las escamas para extraer una porción de músculo blanco (Fig. 1); la porción extraída se homogeneizó con un volumen igual de amortiguador tris-glicina pH 8.9 y se centrifugó a 1600 rpm durante un minuto. Posteriormente, mediante una pipeta Pasteur se extrajo el sobrenadante para obtener dos fracciones: una para correr las proteínas del suero total del músculo y otra para correr las parvalbúminas. Los organismos se guardaron en refrigeración a -5°C para su conservación.

Para obtener parvalbúminas, las muestras se sometieron a 60°C en baño María durante 5 minutos, con el fin de desnaturalizar las demás proteínas del músculo.

b). Preparación de geles: Para elaborar los geles, se siguió la técnica de Fehrstrom y Moberg (1977), en la forma siguiente: Alrededor de una placa de plástico formadora de canales, se colocó una liga de 2 mm de grosor sobre la cual, se colocó una placa de vidrio. El paquete se asegura con pinzas y se deja al mismo tiempo, libre

la abertura por donde se introduce la poliacrilamida.
Los geles se prepararon a una concentración del 10% como sigue:

1. Solución amortiguadora tris-glicina pH 8.9 33.0 ml
2. Solución de poliacrilamida 29.7 ml
3. Mezclar y aplicar vacío durante 30 seg
4. Persulfato de amonio 3.2 ml
5. TEMED 0.1 ml
6. Aplicar un segundo vacío durante 30 seg

- c). Preparación de amortiguadores para los electrodos:
Se prepararon los amortiguadores tris-glicina pH 8.9 pesando 6.32 g de tris y 3.94 g de glicina para 1000 ml de agua destilada y desionizada. Para la preparación del amortiguador tris-HCl pH 8.1, se pesaron 12.1 g de tris y se prepararon 50 ml de HCl 1N para 1000 ml de agua destilada y desionizada.
- d). Preparación de las soluciones fijadora, teñidora, destañadora y preservadora: de acuerdo a Fehrstrom y Moberg (1977).
- e). Técnicas electroforéticas: Se siguió la metodología de electroforesis convencional en geles de poliacrilamida según Fehrstrom y Moberg (1977), con el empleo de una cuba modelo Multiphor 2117 LKB horizontal; una fuente de poder 2103 LKB y un baño de agua circulante con temp

temperatura regulable LKB. La temperatura empleada durante el corrimiento de las muestras fue de 9.0°C, se realizó una pre-electroforesis durante 30 min a 222 V, 400 mAHP y 280 W con el fin de impregnar el gel con la solución amortiguadora y limpiarlo de impurezas. Una vez transcurrido el tiempo de pre-electroforesis, se aplicó una cantidad de 8 μ l en cada cavidad de gel de la muestra correspondiente; además en una de estas cavidades, se aplicó azul de bromofenol como indicador frontal de la electroforesis; el corrimiento electroforético de las muestras se efectuó durante 10 minutos a 222 V, 200 mAHP y 280 W con el objeto de que la muestra se concentrara en una zona de la placa. Una vez concluido ese período, las condiciones eléctricas se cambiaron a 222 V, 450 mAHP y 280 W; según el tipo de muestra, el tiempo de corrimiento electroforético varió entre una hora y media y dos horas.

Una vez completada la electroforesis, la placa de gel se sumergió en una solución fijadora, durante una hora; posteriormente se colocó en solución ténedora durante un lapso de una o dos horas. El exceso de colorante fue retirado por difusión con la solución desteñidora (proceso que requiere por lo menos unas ocho horas) y por último, la placa de gel se dejó durante una hora en solución preservadora; posteriormente sobre la placa se colocó una hoja de plástico para su adecuada conservación.

Las placas se colocaron sobre un negatoscopio y se fotografiaron, mediante una cámara con sistema Reflex y película Kodak Technical Pan Film, de esta forma se obtuvieron impresiones fotográficas del mismo tamaño que el de las placas para poder identificar los sitios de las bandas en todas ellas.

Los electroferogramas obtenidos se analizaron por sistema proteico; en cada uno de ellos se numeraron las bandas en función del número total obtenido en las cuatro especies estudiadas, designando a la banda más rápida (la más alejada del origen) como la "banda 1", a la que le sigue en velocidad 2, y así subsecuentemente hasta la más lenta (la más cercana al origen) n. Además para una mayor facilidad en el análisis, cada sistema proteico se designó de la siguiente manera: parvalbúminas: "p", suero de músculo: "sm" y hemoglobinas: "h". Cada patrón (dato que cada especie presentó más de uno) se designó como "A, B, C, etc.". De tal forma, se efectuó la combinación de letras mayúsculas con las minúsculas como subíndices (tipo de sistema proteico) para formar una clave y poder referirse fácilmente a éstas.

A partir de la información derivada de los electroferogramas, se tomaron los niveles que fueron codificados como "caracteres multiestados cualitativos con secuencia lógica"

según especificaciones de Crisci y López-Arnengel (1983) de acuerdo a la siguiente escala:

Porcentaje de la frecuencia de las bandas de cada nivel en cada sistema proteico para las diferentes especies (%).	Caracter codificado
0.0	0
0.1 --- 33.3	1
33.4 --- 66.7	2
66.8 --- 100.0	3

Con el cómputo de caracteres codificados, se construyó una matriz básica de datos a partir de la cual se calcularon las "distancias taxonómicas promedio -DTP-" (Sokal 1961) entre todas las especies incluidas en este estudio. La DTP se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$DTP = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^n (x_{lj} - x_{lk})^2}{n}}$$

Donde:

DTP = Distancia taxonómica promedio

n = número de caracteres

x_{lj} = valor del carácter l en la especie j

x_{lk} = valor del carácter l en la especie k

En el coeficiente DTP, la máxima similitud corresponde al cero y los valores de mínima similitud tienden al infinito.

Posteriormente, se hizo un análisis de agrupamiento entre las cuatro especies de góbidos estudiadas y los sistemas proteicos: suero de músculo y parvalbúminas, así como un análisis global para todos ellos, siguiendo la técnica de "ligamiento simple" sugerida por Crisci y López-Armengol (1983) para obtener los dendrogramas correspondientes que señalan la DTP entre cada una de las especies.

Para determinar el grado de distorsión interna de la técnica de agrupamiento a partir del análisis global de los grupos proteicos, se efectuó el cálculo del "coeficiente de correlación cofenética" que según Crisci y López-Armengol (1983) fue establecido por Sokal y Rohlf en 1962.

RESULTADOS Y DISCUSION

Parvalbúminas:

En la Fig. 2, se puede apreciar el electroferograma comparativo de las cuatro especies de góbidos, así como el porcentaje de la frecuencia de cada fenotipo; los patrones: Ap y Bp pertenecen a *Gobionellus micodon*; los patrones: Cp, Dp y Ep a *Domitator maculatus*; Fp y Gp a *Domitator latifrons* y por último, *Gobionomus maculatus* presentó los patrones: Hp, Ip y Jp. Se puede apreciar en esta misma figura, que los patrones Ap e Ip pertenecientes a *Gobionellus micodon* y *Gobionomus maculatus* respectivamente, son idénticos.

Los patrones Bp y Gp de las especies *Gobionellus micodon* y *D. latifrons* respectivamente, son casi iguales, la diferencia entre sí está dada por la posición de las bandas 7Bp y 6Gp es ligeramente más rápida; el resto de los patrones difieren entre sí, debido a la ubicación diferente de alguna(s) de sus bandas.

Las bandas que son comunes y prácticamente constantes en su posición son: Bandas 1Ap a 1Jp (véanse las bandas más rápidas de la Fig. 2), 2Ap a 2Jp, 3Ap y 3Bp a 3Jp. En los fenotipos Cp, Dp y Ep, las bandas de este nivel son dos y ocupan el espacio real del tercer nivel de los otros fenotipos, por lo que se designaron banda 3 y 3', donde la 3 es más rápida que la 3'.

Por último, las bandas situadas en el nivel 11, aparecen

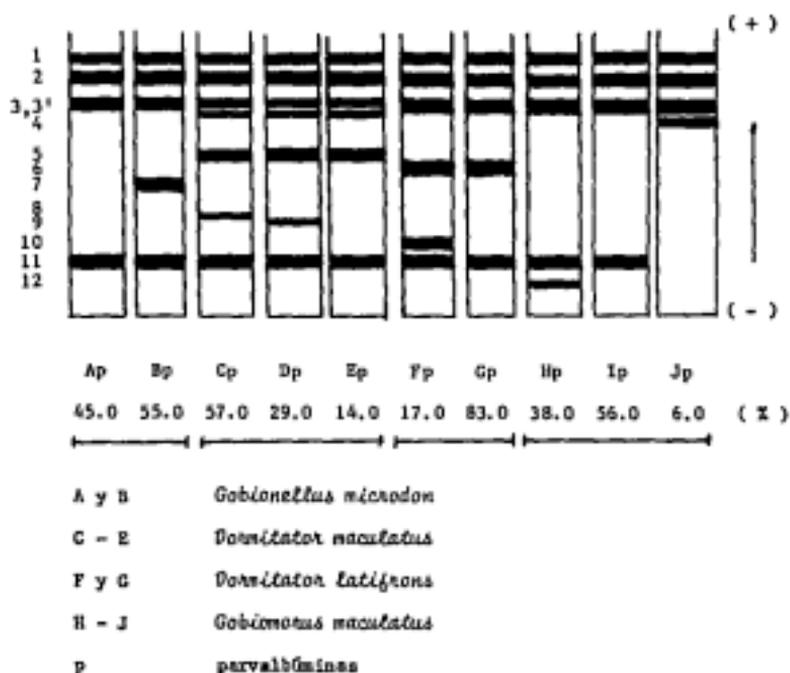


FIGURA 2. Electroferograma comparativo de las parvalbúminas de las cuatro especies de góbidos estudiadas.

en todos los fenotipos, exceptuando el Jp. Así la diferenciación de los fenotipos queda restringida prácticamente a los niveles 3' y de 4 a 10 y por último el nivel 12.

Suero de músculo:

Gobionellus nictodon presentó un polimorfismo bastante mayor que cualquiera de las tres especies restantes. En la Fig. 3 se aprecian los fenotipos comparados de los cuales Ase a Gse pertenecen a la especie mencionada y, como se puede observar todos éstos son diferentes entre sí.

Domitiforma maculatus mostró dos fenotipos (Ksm e Ism) que difieren entre sí, por sólo una banda en el nivel 5.

Domitiforma latifrons presenta 2 fenotipos (Jsm y Ksm) que difieren entre sí por una banda en el nivel 8.

Los patrones de las dos especies del Género *Domitiforma* se diferencian básicamente en los niveles 2' y 3-3' así como en el nivel 4.

Gobionomus maculatus tiene tres patrones que difieren entre sí, así como del resto de los fenotipos de las otras especies.

En este sistema proteico, no se presentan fenotipos iguales o parecidos como en el caso señalado anteriormente para

las parvalbóminas. Las bandas que son comunes en los patrones son: a) nivel 2 en los fenotipos de la especie *Gobionellus microdon* (Asm - Gsm) y *Gobionomus maculatus* (Lsm - Hsm); b) nivel 3 en tres especies: las dos anteriores del nivel 2 y ahora *Demifalax maculatus* y c) el nivel 9 en las cuatro especies, nótese que *D. maculatus* no presenta banda en el nivel 2 y que *D. latifrons* presenta dos bandas que se han designado como 2 y 2'.

El nivel 3 es común a tres especies, queda excluida la especie *D. latifrons*, ya que presenta dos bandas y por ello se designó a este nivel en dicho fenotipo como 3 y 3'; el nivel 4 se encuentra compartido por *G. microdon* (Bsm, Csm y Fsm) y por *D. maculatus* en sus dos fenotipos (Hsm e Lsm); el nivel 5 sólo lo comparten las dos especies de *Demifalax* excepto el fenotipo Lsm de *D. maculatus*; el nivel 6 lo presentan las dos especies de *Demifalax* en sus cuatro fenotipos y *Gobionomus maculatus* en sus fenotipos: Lsm y Hsm; el nivel 7 sólo se presenta en *Gobionellus microdon*; el 8 aparece en las cuatro especies, pero se puede apreciar que los fenotipos Esm, Gsm, Jsm, Lsm y Hsm carecen de esta banda. Como ya se mencionó anteriormente, el nivel 9 aparece en todos los fenotipos; el 10 se encuentra en las cuatro especies pero no en todos sus fenotipos, y se puede observar que es constante en las dos especies de *Demifalax*; el nivel 11 puede considerarse característico de *Gobionellus microdon*, y sólo lo comparte con *Gobionomus maculatus* en el fenotipo Lsm; por último, el nivel 12, sólo aparece en el fenotipo ASM de *Gobionellus microdon*.

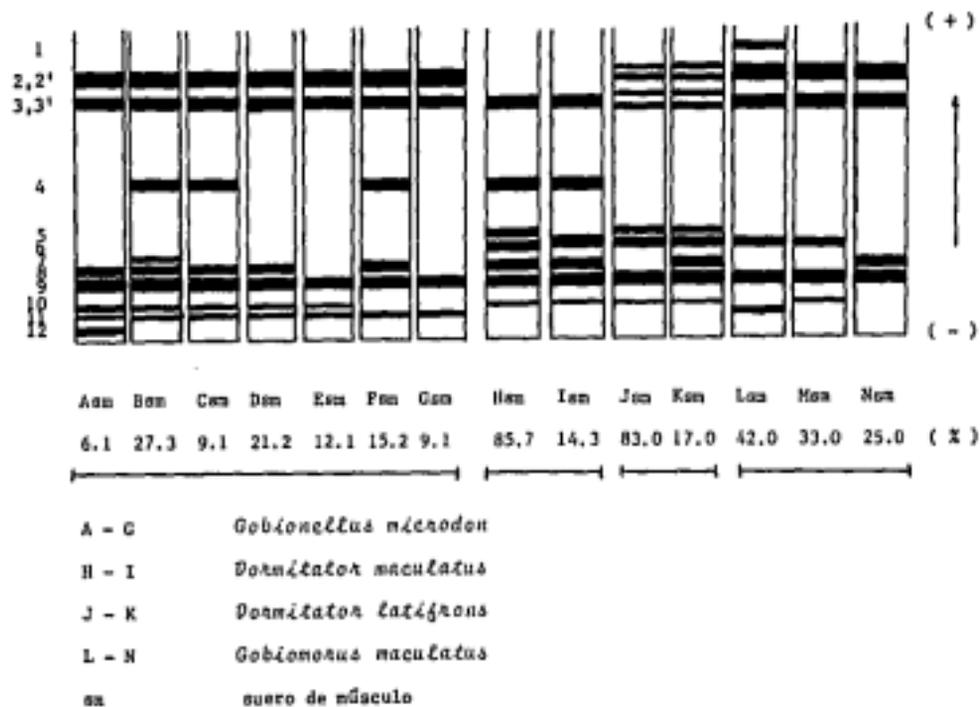


FIGURA 3. Electroferogramas comparativo de suero de músculo de las cuatro especies de góbidos estudiadas.

Hemoglobinas:

En la Fig. 4, se encuentran los electroferogramas comparativos de *Dormitator maculatus* y *D. latiglans*; los fenotipos Ah, Bh y Ch pertenecen a *D. maculatus* y los fenotipos Dh, Eh, Fh, Gh y Hh a *D. latiglans*, obtenidos de 27 y 26 individuos respectivamente.

Dormitator maculatus, las diferencias en sus tres fenotipos están dadas en el nivel 8 del fenotipo Ah, ya que no se encuentra en el Bh ni en el Ch, así como el nivel 12 del fenotipo Ch que no se presenta en los otros dos.

Dormitator latiglans no presentó bandas de migración invertidas como las de *D. maculatus* (niveles 11 y 12 de los fenotipos Dh, Eh, Fh, Gh y Hh), lo cual se puede considerar como una diferenciación electroforética significativa entre ambas especies. Asimismo, comparando los fenotipos de estas especies en los niveles 1 y 2, se puede apreciar que en *Dormitator maculatus*, siempre aparecen las bandas del nivel 1 (la más rápida) y en *Dormitator latiglans* se encuentran bandas en los niveles 1 y 2 o bien en el 1 o en el 2. Los niveles medios (4 a 7) de ambas especies son iguales; el nivel 3 en sus tres fenotipos y el nivel 8, únicamente en el Ah el cual queda representado por 6 bandas medias y los patrones Bh, Ch y Dh por 5 (niveles 3 a 7) y por 4 bandas medias (niveles 4 a 7) en los cuatro fenotipos restantes.

Cabe mencionar que de las muestras obtenidas, se hicieron

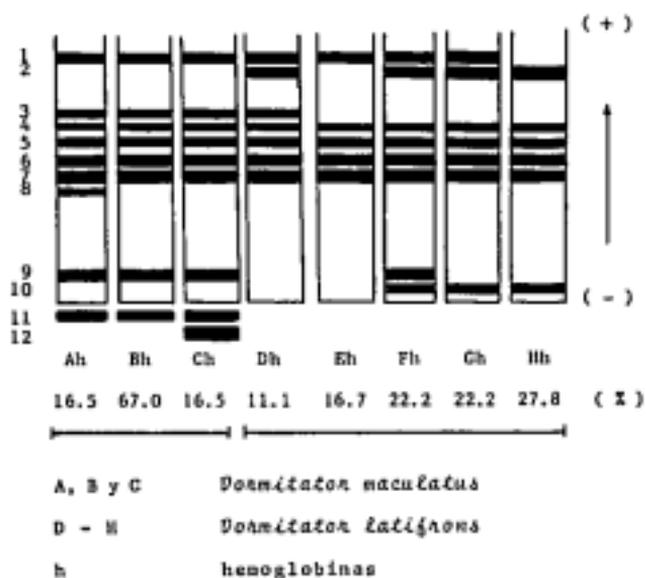


FIGURA 4. Electroferograma comparativo de las hemoglobinas de *D. maculatus* y de *D. latifrons*.

tres corrimientos: el primero fue hecho con sangre recién extraída, otro corrimiento se realizó unas 24 hrs más tarde y, un tercer análisis un mes después; se obtuvieron resultados sin variación alguna; lo cual representa una ventaja el almacenamiento a -5°C sin temor a que existan alteraciones en los patrones electroforéticos de las hemoglobinas, no siendo necesaria la refrigeración a -79°C como lo señala Sharp (1969).

Distancia taxonómica promedio (DTP):

Los resultados derivados del agrupamiento de las cuatro especies a partir de los análisis de parvalbúminas y suero de músculo, se presentan por separado en los dendrogramas de las Figs. 5 y 6 consecutivamente y de manera conjunta en la Fig. 7.

Debido a que, para *D. fatigans* y *D. maculatus* se hizo además el análisis de hemoglobinas, su estudio se desglosó de tal forma que, el dendrograma correspondiente al análisis de parvalbúminas para ambas especies se muestra en la Fig. 8, el de suero de músculo en la Fig. 9, el de hemoglobinas en la 10 y el de los tres grupos proteicos en la 11.

Por último, la Fig. 12 muestra el agrupamiento de las cuatro especies a partir de los tres grupos proteicos analizados.

Debe notarse que, aunque los valores del coeficiente DTP

varien ligeramente en los análisis parciales (Fig. 5 a 11) con respecto al global (Fig. 12), las relaciones entre el ordenamiento de las especies no cambian, lo cual se traduce en que cada uno de los sistemas proteicos derivan información suficiente para caracterizar a nivel específico los peces estudiados, lo cual confirma lo señalado en los trabajos de Tsuyuki *et al.* (1962), Tsuyuki *et al.* (1965 y Tsuyuki *et al.* (1967) que, tanto las proteínas de músculo así como las hemoglobinas son caracteres de diagnóstico específico.

Así con respecto a lo anterior, se puede elegir el análisis de cualesquiera de los tres sistemas proteicos estudiados siendo que, dependiendo de los objetivos que se persigan en una determinada investigación y de las facilidades y medios logísticos con los cuales se disponga, se pueden analizar las parvalbúminas y/o el suero de músculo para el estudio de un gran número de organismos a los cuales es necesario sacrificar para extraerles músculo; cabe indicar que, de los dos sistemas proteicos señalados anteriormente es más recomendable el análisis electroforético del primero, ya que fue el que presentó mayor homogeneidad en los patrones obtenidos. En cambio, si se cuenta con pocos organismos y/o con éstos se persiguen otros fines como por ejemplo: pruebas de cruza o hibridaciones para el mejoramiento de especies icticas o el monitoreo fisiológico de organismos cultivados, el investigador entonces, podrá preferir el análisis electroforético de hemoglobinas, aunque éste sea más elaborado que los anteriores.

Para determinar el grado de distorsión interna de la técnica de agrupamiento a partir del análisis global de los grupos proteicos, se calculó el coeficiente de correlación cofenética entre los valores de la matriz original o matriz de similitud MS (Tabla 1) y los representados en la matriz cofenética MC (Tabla 2) construida a partir de los valores del dendrograma global (Fig. 12). De tal forma, el coeficiente de correlación cofenética entre la MS y la MC es de 0.9 (Fig. 13). Crisci y López-Armengol (1983) determinan que una correlación superior a 0.8 indica una buena representación de la MS por parte del dendrograma.

Los valores obtenidos de la DTP mediante el análisis de ligamiento simple, señalan que las especies más cercanas taxonómicamente a partir de los análisis electroforéticos son: *Gobionomus maculatus* y *Gobionellus nictodon*. *Desmilitator latigona* se relacionó con las especies anteriores y por último *Desmilitator maculatus* se unió a las precedentes a una DTP mayor, lo cual indica que esta especie es la que presenta una mayor disimilitud desde el punto de vista taxonómico.

Castro-Aguirre (1978) sugiere que es necesario profundizar los estudios taxonómicos de *Desmilitator* tanto del Pacífico como del Golfo de México con el fin de "precisar correctamente el estatus de ambas poblaciones" que por su gran parecido, él prefiere unirlos provisionalmente como *D. maculatus* y además indica que Ginsburg en 1953 distingue a *D. latigona mexicana* como una subespecie propia del Pacífico. Como se ha mencionado anteriormente, en el presente estudio se prefi

rió distinguirlos como *D. maculatus* y como *D. latifrons* para las poblaciones del Golfo de México y Pacífico respectivamente. Con respecto a este punto, cabe mencionar que los métodos sistemáticos tradicionales utilizados para tratar de explicar la divergencia entre las especies, se han basado principalmente en análisis de las variaciones morfológicas, pero actualmente se torna evidente que se requieren medidas adicionales para clarificar las relaciones taxonómicas (Maxson y Wilson 1974 y Maxson y Maxson 1979). Asimismo, Grant (1987) señala que es necesario hacer revisiones taxonómicas de las poblaciones coespecíficas (como *Bathygobius tamonus*, *B. andrei* y *B. sepotator* y otras) de peces tropicales separadas por el Istmo de Panamá que, aunque estos pares de peces muestran poca divergencia morfológica sus distancias electroforéticas reflejan que se han aislado una de otra a partir de la clausura del Istmo de Panamá hace alrededor de 3 millones de años y señala además que la electroforesis puede ayudar a la reclasificación de estos peces, como es el caso de *Domitator latifrons* y *D. maculatus* analizados en el presente estudio.

Los estudios electroforéticos están cobrando actualmente amplias perspectivas de aplicación en el campo de las pesquerías, Thorgaard y Allen (1987) señalan que las variaciones en las proteínas de las poblaciones de peces pueden ser empleadas como referencia para efectuar técnicas de entrecruzamiento para el mejoramiento de especies de interés comercial así como en el manejo genético de poblaciones de crianza en

acuicultura dado que en este campo actualmente se trabaja con el monitoreo de las variaciones proteicas para la selección artificial de caracteres mediante la electroforesis y la obtención de mejores descendientes.

Ihsen *et al.* (1981) indican que en la actualidad ya los estudios cariotípicos de los peces resultan un tanto improductivos para la identificación de las variaciones mendelianas en las especies icticas en comparación con los métodos electroforéticos que generan un caudal considerable de datos genotípicos y de variaciones naturales en las proteínas y que pueden ser utilizadas como marcadores genéticos para demostrar diferencias en las poblaciones que no son aparentes con otros métodos taxonómicos que emplean como referencia características fenotípicas externas.

Por lo anterior, se espera que este estudio contribuya al conocimiento de los patrones electroforéticos y del status taxonómico de un grupo tan complejo como lo son los góbidos que representa un valioso potencial pesquero en México.

H. S.	<i>Dormitator latifrons</i>	<i>Dormitator maculatus</i>	<i>Gobiomellus microdon</i>	<i>Gobiomorus maculatus</i>
<i>Dormitator latifrons</i>	0			
<i>Dormitator maculatus</i>	1.71	0		
<i>Gobiomellus microdon</i>	1.60	1.61	0	
<i>Gobiomorus maculatus</i>	1.36	1.62	1.11	0

Tabla 1. Matriz de similitud (MS) global; los valores corresponden al coeficiente de DIP a partir del análisis de los grupos proteicos: parvalbúminas, suero de músculo y hemoglobinas.

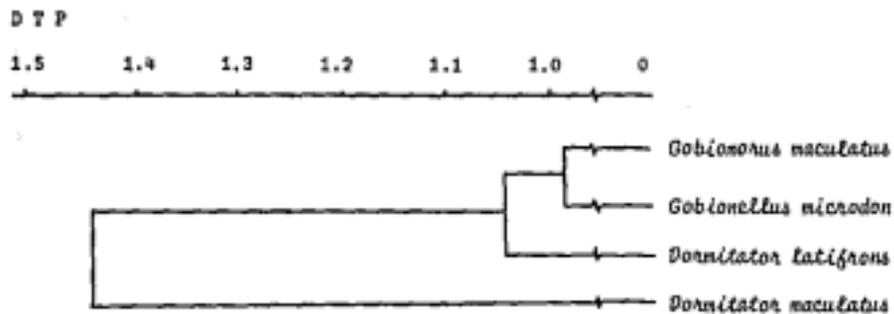


FIGURA 5. Dendrograma que muestra el agrupamiento de las especies de acuerdo al coeficiente de DTP a partir del análisis de parvalbúminas.

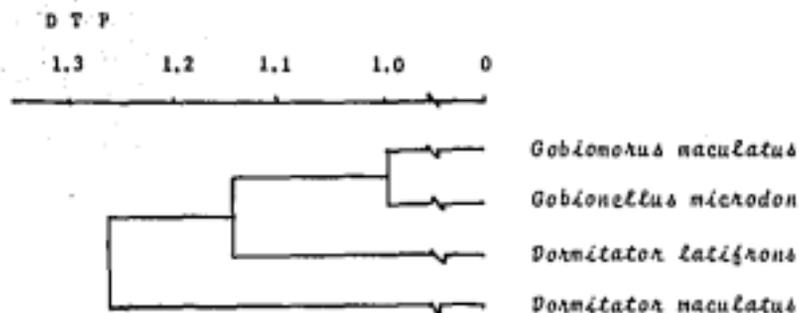


FIGURA 6. Dendrograma que muestra el agrupamiento de las especies de acuerdo al coeficiente de DTP a partir del análisis de suero de músculo.

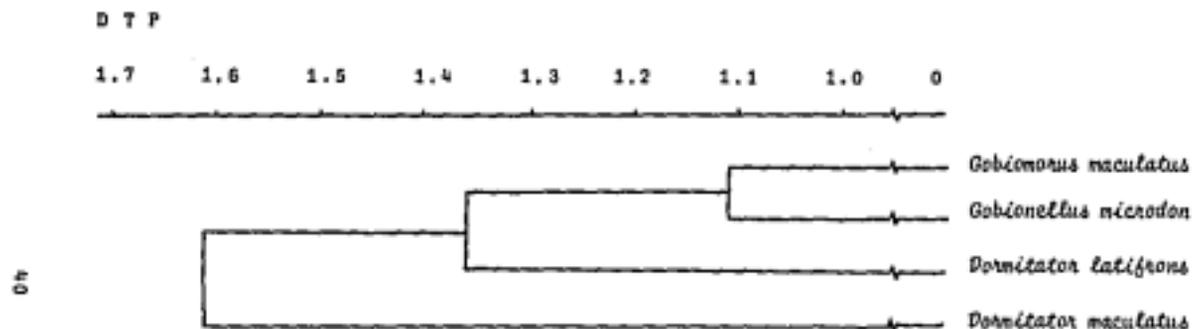


FIGURA 7. Dendrograma que muestra el agrupamiento de las especies de acuerdo al coeficiente de DTP a partir del análisis de los grupos proteicos: parvalbúminas y suero de músculo.

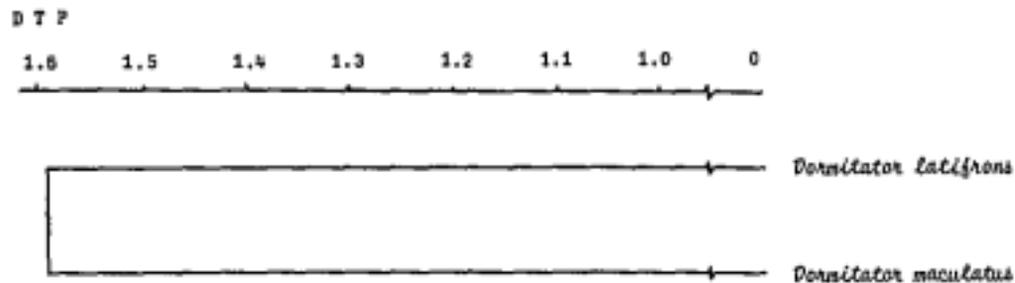


FIGURA 8. Dendrograma que muestra la DTP entre *D. latifrons* y *D. maculatus* a partir del análisis de parvalbúminas.

D T P

1.8 1.7 1.6 1.5 1.4 1.3 1.2 1.1 1.0 0

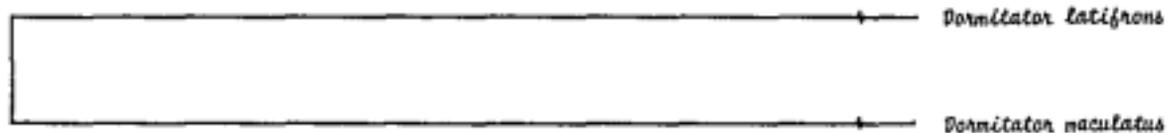


FIGURA 9. Dendrograma que muestra la DTP entre *D. latifrons* y *D. maculatus* a partir del análisis de suero de músculo.

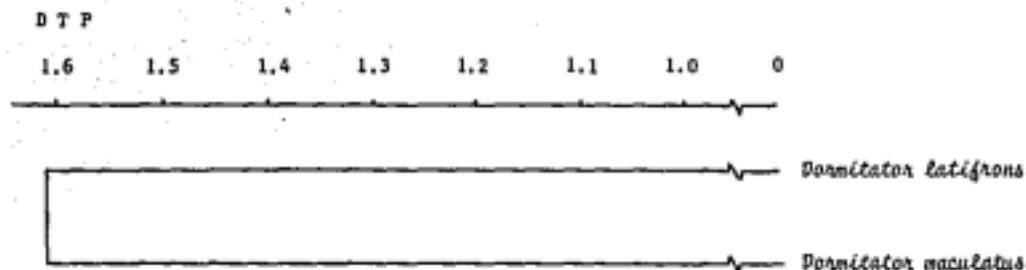


FIGURA 10. Dendrograma que muestra la DTP entre *D. latifrons* y *D. maculatus* a partir del análisis de hemoglobina.

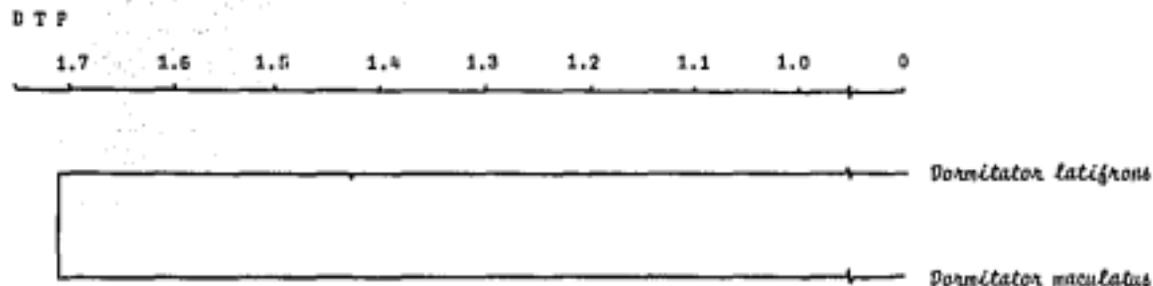


FIGURA 11. Dendrograma que muestra la DTP entre *D. latifrons* y *D. maculatus* a partir del análisis de parvalbúminas, suero de músculo y hemoglobinas.

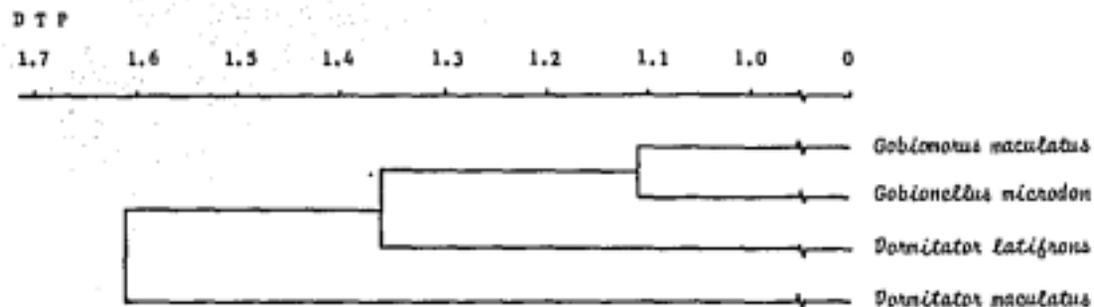


FIGURA 12. Dendrograma que muestra el agrupamiento de las especies de acuerdo al coeficiente de DTP a partir del análisis de los grupos proteicos: parvalbúminas, suero de músculo y hemoglobinas.

H. C.	<i>Dormitator latifrons</i>	<i>Dormitator maculatus</i>	<i>Gobionellus microdon</i>	<i>Gobionomus maculatus</i>
<i>Dormitator latifrons</i>	0			
<i>Dormitator maculatus</i>	1.61	0		
<i>Gobionellus microdon</i>	1.36	1.61	0	
<i>Gobionomus maculatus</i>	1.36	1.61	1.11	0

TABLA 2. Matriz cofenética (MC) que proporciona los valores del coeficiente de DTP representados en el dendrograma global.

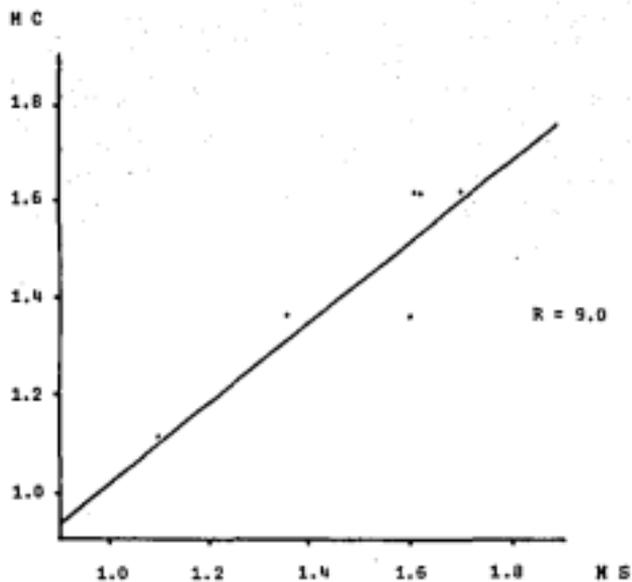


FIGURA 13. Coeficiente de correlación coeficiente (R) entre la MS y la MC a partir de los análisis globales (parvalbúminas, suero de músculo y hemoglobinas).

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México por su ayuda con las instalaciones, equipo y material del laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos, donde se llevó a cabo el presente estudio.

Asimismo, mi más profundo agradecimiento al Dr. Manuel Uribe Alcocer por la dirección y apoyo prestados al desarrollo del mismo.

Un reconocimiento muy especial al Dr. César Flores Coto, al Dr. Luis A. Soto González, al Dr. Manuel Guzmán Arroyo y al M. en C. Adolfo Gracia Gasca por sus invaluables sugerencias y comentarios al manuscrito.

Un especial reconocimiento al Dr. Gerardo Green Macías + por su invaluable ayuda y asesoría durante mis estudios de posgrado y durante el desarrollo inicial de esta investigación, y con mucho cariño por su amistad inigualable.

También quiero señalar que la realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la valiosa ayuda del Quím. Julio B. Arreguín-Espínosa de los Monteros en el trabajo de laboratorio y de campo, así como por el apoyo y sugerencias en el trabajo de laboratorio por parte de la M. en C. Ma. Guadalupe Vera Muñoz.

Agradezco también a todos mis compañeros y amigos que de una u otra forma participaron en la elaboración del mismo.

LITERATURA CITADA

- ABRAMOFF, P., R. M. DARNELL y J. S. BALSANO, 1968. Electrophoretic demonstration of the hybrid origin of the gynogenetic teleost *Poecilia latipinna*, The American Naturalist, 102 (928):555-558.
- ABRAMS, R., R. VERBEKE y J. vanHOOF, 1983. Fish species identification by isoelectric focusing. The use of schematic patterns, Fleischwirtschaft, 63 (9):1459-1462.
- AHLSTROM, E. H., 1975. Sesión preliminar de Taxonomía. In: UNESCO (Ed.), Informe del Seminario de las CICAR sobre ictioplancton. Documentos técnicos de la UNESCO sobre Ciencias del Mar, México, D.F., (20):15-16.
- ALLENDORF, F. W. y F. M. UTTER, 1979. Population genetics. In: HOAR, W. S., D. J. RANDALL y J. R. BREH (Eds.). Fish Physiology, Vol. VIII, 407-454 pp.
- AYALA-DUVAL, E., 1980. Contribución al conocimiento del ictioplancton de la región suroccidental del Golfo de México. Tesis Profesional, Fac. de Ciencias, Univ. Nat. Autónoma México. 66p.
- BRUNORI, M., 1975. Molecular adaptation to physiological requirements: The hemoglobin system of trout. Curr. Top. Cell. Regul., 9:1-39.

- CASTRO-AGUIRRE, J. L., 1978. Catálogo sistemático de los peces marinos que penetran a las aguas continentales de México con aspectos zoogeográficos y ecológicos. Departamento de Pesca, Ser. Científica (19):153-154.
- CHAVANCE, P., C. FLORES-COTO y A. SANCHEZ-ITURBE, 1984. Early life history and adult biomass of sea bream in the Términos Lagoon, Southern Gulf of Mexico. Trans. Am. Fish. Soc., 113:166-177.
- CHUA, K. E., E. J. CROSSMAN y C. A. GILMOUR, 1978. Lactate dehidrogenase (LDH) isoenzymes in muscle of fresh water fish by isoelectric focusing in thin-layer polyacrilamide gel. Science Tools, 25 (1):9-11.
- CRISCI, J. V. y M. F. LOPEZ-ARMENGOL, 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Secretaría General de la O. E. A., Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington, D. C., 132p.
- CUSHING, D. H., 1975. Ecología Marina y Pesquerías. Edit. Acribia. España, 78-98pp.

- FERNSTROM, H. y U. MOBERG, 1977. SDS and conventional polyacrilamide gel electrophoresis with LKB 2117 Multiphor. Application note (306), LKB Produkter AB, Bromma Suecia, 15p.
- FERREIRA-GONZALEZ, G. R. y D. E. ACAL-SANCHEZ, 1984. Estudio de la comunidad ictioplanctónica de la Laguna de Términos, Campeche. Tesis profesional E.N.E.P. Iztacala, Univ. Nat. Autón. México, 57p.
- FLORES-COTO, C. y M. L. HENDEZ-VARGAS, 1982. Contribución al conocimiento del ictioplancton de la Laguna de Alvarado, Ver., An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Autón. México, 9 (1): 141-150.
- GRANT, W. S., 1987. Genetic divergence between congeneric Atlantic and Pacific Ocean fishes. In: RYMAN, N. y F. UTTER (Eds.), Population Genetics and Fishery Management, University of Washington Press, Seattle: 225-246pp.
- GUILLENSTEN, U., C. REUTERNALL, N. RYMAN y G. STÄHL, 1980. Geographical variation of transferrin allele frequencies in three deer species from Scandinavia. Hereditas, 92:273-281.

- HOUILLON, CH., 1972. Sexualidad, Ed. Omega. Barcelona, 116-136pp.
- HUBBS, C. L. y L. C. HUBBS, 1932. Apparent parthenogenesis in nature, in a form of fish of hybrid origin. Science, 76 (1983):628-630.
- IHSSEN, P. E., H. E. BOOKE, J. M. CASSELMAN, J. M. McGLADE, H. R. PAYNE y P. M. UTTER, 1981. Stock identification: Materials and methods. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 38: 1838-1855.
- LANKFORD, R. R., 1977. Coast and Lagoons of Mexico. Their origin and classification. In: Estuarine Processes. Academic Press, Vol. II:182-215pp.
- HALDONADO-MONROY, H.C., M. URIBE-ALCOCER, J. ARREGUIN-ESPINO SA y A. CASTRO-PEREZ, 1985. Karyotypical studies on Dormitator maculatus Bloch and Gobionomus dormitor Lacépède (Gobiidae:Perciformes). Cytologia, 50:663-669.
- MAXSON, L.R. y R. D. MAXSON, 1979. Comparative albumin and biochemical evolution in plathodontid salamanders. Evolution 33:1057-1062.

- _____ y A. C. WILSON, 1974. Convergent morphological evolution detected by studying proteins of tree frogs in the *Hyla eximia* species group. Science, 185:68-68.
- McANDREW, B. J. y K. C. MAJUMDAR, 1983. *Tilapia* stock identification using electrophoretic markers. Aquaculture, 30:249-261.
- MORGAN, R. P. y H. ULANOWICZ, 1976. The frequency of muscle protein polymorphism in *Mexidía mexidía* (Atherinidae) along the Atlantic Coast. Copeia, 1976 (2):356-360.
- MUNILLA, T. y J. MATAILLANAS, 1979. Estudio electroforético de las proteínas musculares de algunas especies del Género *Raja* (Rajiformes:Rajidae) I. Cahiers de Biologie Marine, 20:165-170.
- HAGY, A., K. RAJKI, J. BAKOS y U. CSANI, 1979. Genetic Analysis in carp (*Cyprinus carpio*) using gynogenesis. Heredity, 43 (1):35-40.
- Op't HOF, J., S. N. SCHOEMAN, L. leGRANGE y D. R. OSTERHOFF, 1982. Biochemical polymorphism in South African fresh water fish. Isoenzyme patterns in fish of the Families Cyprinidae and Salmonidae. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 13 (1982):1-19.

- PEREZ, E. J., 1979. Respiración aérea y acuática en peces de la especie *Hoplosternum littorale* L. parámetros sanguíneos. Acta Cient. Venezolana, (30):314-317.
- PURDOM, E. E., 1969. Radiation induced gynogenesis and androgenesis in fish. Heredity, 24:431-444.
- _____, 1972. Induced poliploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the Flounder (*Platichthys flesus*). Heredity, 29:11-24.
- _____, y R. F. LINCOLN, 1974. Gynogenesis in hybrids within the Pleuronectidae. In: BLAXTER, J. H. S. (Ed.). The early life history of fish. Springer-Verlag, Berlin/Nueva York, 537-544pp.
- RUSELL, M. E. y J. E. JEFFREY, 1979. Serum transferrin polymorphism in grey trout *Cynoscion nebulosus*, from the lower Rappahannock River. Estuaries, 2 (4):269-270.
- SHARP, G. D., 1969. Electrophoretic study of tuna hemoglobins, Comp. Biochem. Physiol, 31:749-755.
- SHAW, R. CH. y R. PRASAD, 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes-A compilation of recipes. Biochemical Genetics, 4:297-320.

- SMITH, A. C. y R. G. GILMAN, 1982. Electrophoretic study of proteins from solubilized eye lens nuclei of fishes. Comp. Biochem. Physiol. 71-B (3):337-343.
- SOKAL, R. R., 1961. Distance as a measure of taxonomic similarity. Syst. Zool., 10 (70):40-51.
- STANLEY, G. J. y E. K. SHEED, 1973. Artificial gynogenesis and its application in genetics and selective breeding of fish. In: SCOTLAND, O. (Ed.). Proceedings of the Symposium on the early life history of fish. 527-536pp.
- STARHARCH, J., 1977. Electrophoretic separation of blood serum proteins on polyacrilamide gel in seven carp families. Acta Hidrobiol. 19 (2):163-167.
- TANAKA, S., 1974. Significance of egg and larval surveys in the studies of population dynamics of fish. In: BLAXTER, J. H. S. (Ed.). The early life history of fish. Springer-Verlag, Berlin/Nueva York, 151-157pp.
- THORGAARD, G. H. y S. K. ALLEN, 1967. Chromosome manipulation and markers in fishery management. In: RYMAN, N. y F. UTTER (Eds.). Population Genetics and Fishery management, University of Washington Press, Seattle: 319-331pp.

TORRES-PADILLA, A., 1982. Estudio de los cromosomas de *Oreochromis latipinna* (Gobiidae-Perciformes). Tesis Profesional, Fac. Ciencias. Univ. Nal. Autón. México, 48p.

TSUYUKI, H., E. ROBERTS y R. E. A. GADD, 1962. Muscle proteins of Pacific Salmon (*Oncorhynchus*) III. The separation of muscle proteins soluble in low ionic strength salt solutions by starch gel electrophoresis. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 40:929-936.

_____ y F. WOLD, 1964. Enclase: Multiple molecular forms in fish muscle. Science, 146:535-537.

_____ y E. ROBERTS, 1965. Zone electrophoretic comparison of muscle myogens and blood proteins of artificial hybrids of Salmonidae with their parental species. J. Fish. Res. Bd. Can., 22 (3):767-773.

_____ , _____ y W. E. VANSTONE, 1965. Comparative zone electropherograms of muscle myogens and blood hemoglobins of marine and fresh water vertebrates and their application to biochemical systematics. J. Fish. Res. Bd. Can., 22 (1):203-213.

- _____ y R. H. KERR, 1967. Comparative electropherograms of the Family Catostomidae. J. Fish. Res. Bd. Can. 24 (2):299-304.
- URIBE-ALCOCER, M., J. ARREGUIN-ESPINOSA, A. TORRES-PADILLA y A. CASTRO-PEREZ, 1983. Los cromosomas de *Domitilia latipinna* (Pisces:Gobiidae). An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Autón. México, 10 (1):23-30.
- VERA-MUÑOZ, M. G., 1985. Caracterización electroforética de los peces *Saxothetodon mossambicus* y *S. homotum* (Pisces:Cichlidae). Tesis de Maestría en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, Univ. Nat. Autón. México, 56p.