

00361

8
20



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"ESTUDIO ELECTROFORÉTICO DE LAS ESTERASAS EN LAS
SUBPOBLACIONES CENTRAL Y SUREÑA DE LA ANCHOVETA
NORTEÑA *Engraulis mordax* DE LA COSTA OCCIDENTAL DE
BAJA CALIFORNIA"

TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA)
PINDARO DÍAZ JAIMES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



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

INTRODUCCION.	1
ANTECEDENTES.	5
OBJETIVO.	21
MATERIALES Y METODOS.	23
RESULTADOS.	34
DISCUSION.	54
CONCLUSIONES.	55
REFERENCIAS.	67

R E S U M E N .

Con el propósito de encontrar marcadores genéticos útiles en la identificación de las poblaciones central y sureña de la anchoveta *Engraulis mordax* de la corriente de California, se analizaron electroforéticamente las esterases de músculo, corazón, ojos y suero sanguíneo así como las hemoglobinas y transferrinas provenientes de muestras de sangre. La distribución de las frecuencias alélicas muestran poca divergencia genética entre estas entidades poniendo de manifiesto la existencia de flujo genético considerable entre ambos demes, marcado por valores bajos en el índice de Wright para los loci polimórficos. Las diferencias de las frecuencias alélicas encontradas en las distintas colectas probablemente sean consecuencia de una estructura heterogénea de la población central en Ensenada B.C. formada por varias entidades reproductoras.

I.- INTRODUCCION.

El incremento de la actividad pesquera en nuestro país debido a diversos factores como el número de especies explotadas, el aumento en el número de cooperativas pesqueras y de la flota del sector privado, aunado a la demanda de un mayor abasto de proteína animal para fines industriales o alimenticios, así como a la necesidad de la entrada de divisas al país, ponen en riesgo la estabilidad de los ecosistemas marinos y en consecuencia la explotación de los recursos del mar que ofrecen los extensos litorales mexicanos.

Resulta entonces de gran importancia la planeación de la explotación de dichos recursos de tal forma que permita el mantenimiento de las pesquerías a largo plazo. Al respecto existen diversos estudios enfocados al establecimiento y mantenimiento de éstas, tales como los de la biología de las especies y su dinámica poblacional, así como otros de índole taxonómico, sin embargo, es importante resaltar la relevancia que tienen los estudios genéticos cuando se desea la planeación de una pesquería, puesto que en muy pocas veces son tomados en consideración por desconocimiento o desinterés, tanto por parte de la comunidad científica, como por las personas involucradas en el establecimiento y administración de las pesquerías.

En la actualidad existen numerosos estudios dirigidos a resaltar la importancia de la delimitación genética en las

poblaciones pesqueras (Allendorf y Utter 1979, Allendorf et al 1987, Utter et al 1974, Utter 1986, McAll 1986, Gall 1986 y 1987, Hedgecock 1986, Pella y Milner 1987, Smith et al 1989, Ryman 1987) cuando se desea su aprovechamiento óptimo.

El manejo de las pesquerías según Everhart y Youngs, (1981) se define como la aplicación de los conocimientos científicos a problemas pesqueros para lograr un óptimo rendimiento de dichos productos. Entre más amplios sean los conocimientos interdisciplinarios enfocados al manejo de las pesquerías, serán más factibles el control y administración de las mismas.

De acuerdo con Allendorf et al (1987), la perspectiva de desarrollo de la genética aplicada al manejo de las pesquerías es de gran importancia a corto plazo, puesto que la abundancia y características de las poblaciones pesqueras no pueden ser conservadas únicamente mediante el equilibrio entre las capturas y el reclutamiento de individuos, ya que no existe la certeza de saber si en dichas capturas, la muestra es representativa del total de la población, en términos de variabilidad genética

La preservación de los recursos genéticos de una población se basa principalmente en la conservación de la diversidad genética de la misma, la cual puede verse disminuida por factores como el aislamiento reproductivo, la selección prolongada, deriva génica y la endogamia (FAO/UNEP, 1981). Esta disminución trae como consecuencia la pérdida del potencial de adaptabilidad ya que se propicia la

disminución en la frecuencia de genotipos heterocigotos los cuales, según se ha demostrado, son los que presentan a menudo los índices de supervivencia mayores o tasas de crecimiento relativo superiores (FAO/UNEP, 1981). De esta manera, al ser explotada una población pesquera es importante la determinación de su estructura en términos genéticos mediante la identificación de las subpoblaciones que la forman, para evitar una mayor presión selectiva en algún sector específico de la población o la interrupción del flujo de genes, disminuyendo con esto su potencial de variabilidad y produciendo así un daño en sus recursos genéticos.

Es importante mencionar que la subdivisión de una población en entidades pesqueras denominadas "stock" no está respaldada en estudios que establezcan diferencias genéticas entre dichas entidades. El término stock se aplica a una población que está siendo capturada y administrada, correspondiendo a una actividad enteramente humana; las subpoblaciones son grupos de individuos con cierto grado de aislamiento genético que se aparean frecuentemente entre sí y en pocas ocasiones con los individuos de otras subpoblaciones, representando unidades biológicas bien definidas (Hedgecock, 1986). Un stock puede estar formado por una o varias subpoblaciones (Cushing 1975), lo cual debe tomarse en consideración si se desea administrar en forma adecuada una pesquería. La validez del concepto de stock ha sido previamente discutida por diversos autores (Alkutov

1981, Alkutov y Salmenkova 1987, Hedgecock 1986, McCall 1986).

Existen diversos métodos para determinar la estructura de las poblaciones icticas como el marcaje o etiquetaje de los individuos (Cushing 1975), la determinación de caracteres merísticos (Vrooman et al 1981), así como los estudios de dinámica poblacional y electroforesis.

El estudio electroforético de las proteínas es un método en el que se basan frecuentemente los genetistas, ya que aporta información confiable sobre la expresión directa de los genes resultando en patrones de bandas con los cuales es posible detectar diferencias a nivel individual, poblacional e incluso entre subpoblaciones, para ser utilizados en estudios diversos de índole sistemático, filogenético y evolutivo (Awise 1975).

Es importante la utilización de los conocimientos resultantes de los distintos estudios tendientes a diferenciar las subpoblaciones que conforman una población, ya que permiten acercarse a la meta de lograr el óptimo rendimiento de la pesquería sin el menoscabo del recurso.

II.- ANTECEDENTES.

Las anchovetas (*Engraulis mordax*. Girard 1854) son peces de la familia Engraulidae comprendida en el orden Clupeiformes, que forman parte de la clase Osteichthyes (Greenwood et al 1966).

Según la descripción de Whitehead et al (1988), son organismos de cuerpo delgado, elongado, más que redondeado transversalmente. Hocico bastante puntiagudo, maxila moderada, extremidades puntiagudas, llegando casi al borde posterior del preopérculo, proyectándose más allá del extremo de la segunda supramaxila; el extremo de la mandíbula inferior debajo del nostrilo. La parte inferior del arco branquial con 37 a 45 branquiespinas largas y delgadas, ausencia de branquiespinas en la superficie del tercer arco en la región epibranquial. Origen de la aleta anal bajo la base de los radios de la última dorsal o un poco atrás. Una banda plateada al costado en individuos jóvenes desapareciendo con la edad. El alto número de branquiespinas las distingue de todas las especies de Anchoa del Pacífico. Distribuida al este del Pacífico norte (parte norte de la Isla Vancouver hasta Cabo San Lucas, Baja California). Longitud total de 24.8 cm. y una longitud promedio de entre 12 y 14 cm. en las edades 2 y 3. Habita aguas pelágicas usualmente costeras formando grandes cardúmenes.

La pesquería de la anchoveta es una de las más importantes en el país, junto con las de la sardina y del

atún, mismas que se localizan en una zona de alta productividad, la Corriente de California. Esta pesquería constituye hasta un 20% de las capturas totales de peces a nivel nacional y aunque no es utilizada para consumo humano directo, representa una fuente importante de proteínas para la elaboración de alimentos destinados a la engorda de animales forrajeros (Wadsworth, 1974b), a través de su transformación en harina de pescado, constituyendo del 2 al 10% del contenido proteico de estos productos. Asimismo, de la anchoveta se obtiene aceite con fines comestibles e industriales. Beumer (1974) ha propuesto diversos métodos para el procesamiento de la anchoveta y su utilización para el consumo humano.

Wadsworth en (1974a) considera a las anchovetas de las costas de California y Baja California como uno de los mayores recursos no utilizados de Norteamérica y señala que la mitad del stock, aproximadamente está disponible en el área de Baja California. Ello representa un enorme potencial económico para nuestro país si se calcula una posible captura anual de un millón de toneladas aproximadamente, de acuerdo con las estimaciones hechas por Vrooman y Smith (1971) de la biomasa desovada en el área de investigaciones de CalCOFI, cuyo valor es de 10 millones de toneladas aproximadamente.

Las anchovetas son peces pelágicos que se localizan con frecuencia en las zonas de surgencias (Polanco et al 1987). Dichas áreas se caracterizan por una alta productividad, en

especial las localizadas en aguas templadas. Cushing (1975) ha señalado cuatro áreas principales de surgencias que se localizan en las costas de Perú, California, Bengala y las islas Canarias.

Las surgencias de California son causadas por corrientes con límite este, cuya característica es ser anchas y lentas, frías y de baja salinidad, y cuyo flujo se realiza en dirección hacia el Ecuador.

Los índices de surgencias presentan ciclos anuales amplios con valores mínimos en los primeros meses del año y valores máximos en los meses de junio y julio (Escudero, 1984). En el sistema de corrientes de California y durante los meses de noviembre a enero, existe una corriente superficial en dirección norte que evita la formación de surgencias, sin embargo en primavera los vientos del norte disipan dicha corriente reapareciendo la corriente de California hacia el sur y dando lugar a las surgencias.

La temperatura superficial cercana a la costa se ve afectada notablemente por el transporte de aguas frías durante las surgencias. Sin embargo la temperatura promedio se encuentra entre los 16 y 20 grados centígrados, alcanzándose los valores mínimos en febrero y marzo y los máximos de septiembre a octubre (Escudero, 1984).

La distribución de las anchovetas está marcada notablemente por los gradientes de temperatura y turbulencia causados por las surgencias, principalmente en las áreas de desove. Por comentarios hechos por pescadores de Ensenada y

Puerto San Carlos se sabe que la anchoveta no aparece en zonas de aguas cálidas ni extremadamente frías; Baxter (1967) encontró un intervalo de distribución de las anchovetas que varía de 14.5 a 20 grados centígrados para adultos y de 13 a 17.5 grados para huevos y larvas. Sin embargo, se tienen registros de migraciones verticales durante el día y la noche junto con las segregaciones del plancton. Mediante experimentos realizados en el laboratorio de la Academia de Ciencias de California (Polanco et al 1987), se demostró que las anchovetas tienen marcadas preferencias por bajas intensidades de luz y, de hecho, las capturas realizadas por las embarcaciones se llevan a cabo en aguas superficiales durante la noche.

Asimismo, a finales del invierno las anchovetas realizan migraciones mar adentro, en dirección suroeste, coincidiendo con su pico de desove (Cushing 1975, Gallardo 1985a, Polanco et al 1987) y retornan para dispersarse a partir de marzo, aprovechando la época de surgencias en donde encuentran una gran disponibilidad de alimento para los diferentes estadios de desarrollo.

Diversas subpoblaciones de la anchoveta nortea *Engraulis mordax* han sido descritas. El primero en citarlas fué Hubbs en 1925 a partir de muestras colectadas en la Bahía de San Francisco al sur de California. Basándose en características tales como el número de vértebras, proporción de la cabeza, longitud, hábitos y distribución,

estableció dos subespecies: *Engraulix mordax mordax* y *Engraulix mordax nanus*.

Más tarde McHugh y colaboradores (1951) mencionaron la presencia de tres subpoblaciones de la anchoveta del norte con base en estudios de caracteres merísticos y morfométricos. Los límites de las poblaciones fueron ubicadas: 1) en las costas de la Columbia Británica hasta el norte de California, 2) en el sur de California hasta el norte de Baja California y 3) en las costas de la parte central de la península de Baja California hasta el sur de la península (Fig. 2.1).

Por otro lado Vrooman et al (1981) basados en estudios morfométricos, merísticos y electroforéticos, corroboraron la presencia de dichas subpoblaciones, encontrando una estructura genética de las transferrinas formada por cuatro alelos codominantes cada uno controlando la formación de una proteína, cuyas frecuencias genéticas se distribuyen en relación con la distribución geográfica de las subpoblaciones.

Hedgecock et al (1989) a su vez, realizaron análisis electroforéticos en doce loci, de diferentes enzimas, a partir de muestras tomadas de la subpoblación central. Encontraron polimorfismo en 8 de éstos, los cuales fueron heterogéneos estadísticamente en su distribución, es decir, presentaron diferencias en su estructura genética en muestras colectadas en puntos cercanos, lo que evidencia que el stock central de la anchoveta *Engraulix mordax* no

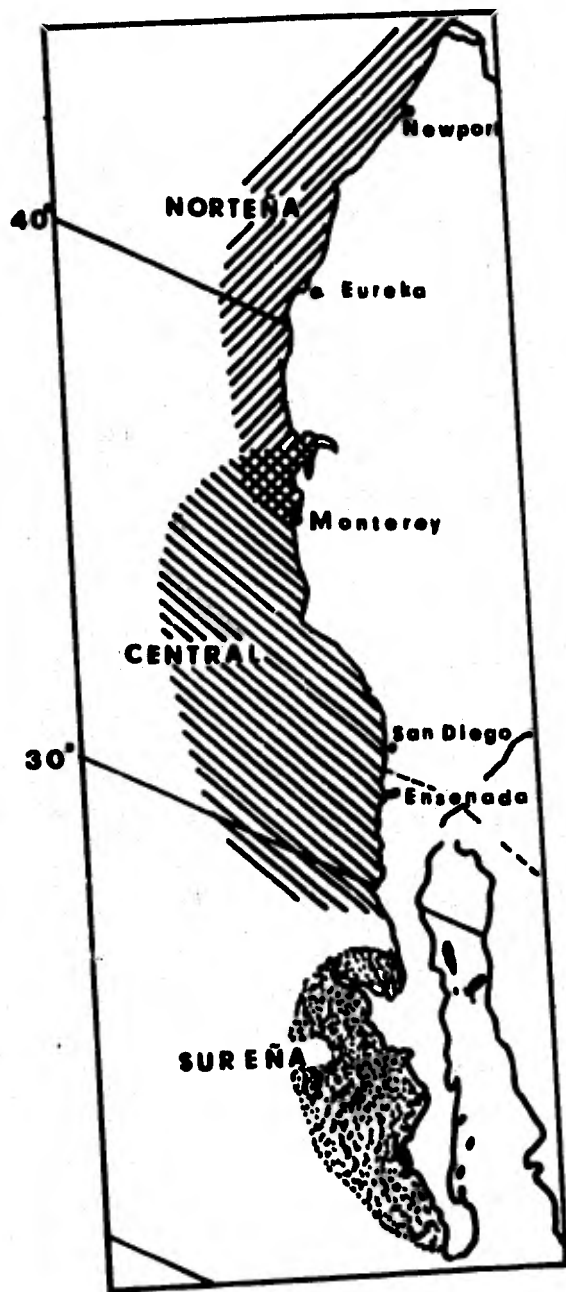


Figura 2.1. Subpoblaciones de la anchoveta *Engraulis mordax* localizadas en la corriente de California (Tomado de Vrooman et al 1981).

corresponde a una subpoblación discreta, sino que dentro de esta misma existen diferentes poblaciones adaptadas probablemente a diferentes épocas de desove.

Gallardo (1985a y b) determinó los patrones de edad y de crecimiento de la anchoveta del norte en las costas de Baja California correspondientes al stock central y, basándose en el análisis de otolitos, encontró diferencias entre dos poblaciones de anchoveta denominándolas norte y sur. Chiappa (1988), en muestras tomadas de ese mismo stock señala la presencia de tres zonas diferenciadas por características hidrográficas según los reportes de la CalCOFI en 1958, asignando la presencia de una población para cada zona y estableciendo diferencias en la talla promedio principalmente.

La pesquería de la anchoveta tuvo su origen a raíz del descenso brusco causado en el stock de la sardina, fenómeno que, según varios autores, propició el aumento en el stock de anchoveta. McCall (1980) discute la posibilidad de un decremento del stock de la anchoveta anterior al de la sardina causado por condiciones oceanográficas desfavorables para la anchoveta y su posterior recuperación, debido a que los censos de larvas realizados por la CalCOFI durante 1940 y 1941 indican una biomasa de desove de entre 2 y 3 millones de toneladas; al mismo tiempo que la biomasa de la sardina correspondió a 1.3 y 2 millones de toneladas, por lo que supone que ambas especies existieron simultáneamente.

Por otra parte Escudero (1984), en estudios más recientes, menciona que la pesquería de la anchoveta ha mostrado un importante decremento ya que se viene sustentando cada vez más, al paso del tiempo, en organismos juveniles que no han alcanzado tallas reproductivas por lo que se ha causado una inestabilidad en la estructura poblacional y con esto una disminución de los volúmenes capturados del recurso.

Por otro lado, en una cronología realizada por la Secretaría de Pesca (Polanco et al 1987) sobre las capturas de la anchoveta, se muestra que esta pesquería tuvo un crecimiento intensivo de 1975 a 1981, años en los cuales se lograron capturas por encima de las 100 mil toneladas anuales; en 1979 se alcanzaron las 200 mil toneladas anuales y en 1981 se lograron las mayores capturas en la historia de la pesquería con 300 mil toneladas. Posteriormente, se da un descenso brusco en las capturas alcanzándose sólo 78 mil toneladas en 1983 e incrementándose ligeramente en los subsiguientes años 1984, 1985 y 1986 rebasando por muy poco las 100 mil toneladas en el último año.

El descenso en la pesquería de la anchoveta observado a partir de 1982 se cree que fué originado por el fenómeno oceanográfico conocido como "El Niño" que tuvo grandes repercusiones en los años de 1982-1983.

Fiedler et al (1986), pusieron de manifiesto los trastornos causados en la población de anchovetas durante "El Niño" de 1982-1983, atribuyendo a este fenómeno un

descenso en la fecundidad, crecimiento lento en adultos y juveniles durante 1983, una baja considerable en el reclutamiento en ese mismo año y un alto índice de mortalidad en larvas.

Por otro lado Parrish et al (1986) han señalado que las poblaciones de peces pelágicos son particularmente susceptibles a un colapso, caso en el que parece encontrarse la anchoveta, y que la alteración de la estructura de edades del stock que se da bajo una presión de sobrepesca tiene, grandes efectos sobre la fecundidad y la estacionalidad del desove, debido a la gran dependencia que la fecundidad y la proporción de sexos tienen con la edad.

Las anchovetas son consideradas desovadores parciales a causa de que lo hacen durante todo el año, y debido a la dificultad de caracterizar sus estados de madurez gonadal (Tapia et al 1988). Estos organismos presentan dos umbrales de desove, correspondientes, el primero a finales de invierno y principios de la primavera, y el segundo, en los meses de otoño (Escudero 1984, Parrish et al 1986, Polanco et al 1988 y Tapia et al 1988). Parrish et al (1986) señalan que la anchoveta desova hasta catorce veces al año; una vez por semana durante los meses pico de desove. La fecundidad absoluta promedio es de 13,861 huevos/gramo de peso corporal; la talla de la primera madurez es de 96 mm de longitud patrón (Hunter y Macewicz, 1980); dato concordante con la información de Baxter (1967) quien reporta la talla de primera madurez entre los 90 y 100 mm, alcanzada durante

el primer año de vida de las anchovetas. Para el cuarto año de vida y una longitud de 150 mm, el 100% se encuentran maduras.

Por otro lado la fecundidad y proporción de sexos son marcadamente dependientes de la edad (la relación hembra-macho es de 0.83 : 1 en la edad uno y 2.01 : 1 en la edad cuatro) por lo que la reducción en la composición de edades como resultado de una sobrepesca, tendería a reducir el potencial de fecundidad de la población y disminuiría la longitud del periodo de desove (Parrish et al 1986).

La anchoveta puede vivir de tres a siete años, aunque en las pesquerías se encuentran escasamente individuos de cuatro años de edad. No obstante se han registrado organismos de hasta siete años (Baxter 1967). Las longitudes máximas que alcanzan las anchovetas se encuentran entre los 120 y 200 mm de longitud patrón (Clark y Phillips 1952, Baxter 1967, Gallardo 1985b) alcanzando el 80% de esta longitud en su primer año de vida (Chiappa 1988). El crecimiento está comprendido en dos etapas anuales; una de crecimiento rápido durante el verano y otoño (Parrish et al 1986, Fiedler et al 1986) anterior al desove y otra de crecimiento lento durante el invierno y primavera (Gallardo, 1985a).

Chiappa (1988) ha informado sobre el régimen y hábitos alimenticios de la anchoveta *Engraulis mordax*. Las anchovetas se alimentan por filtración del plancton y el mordisqueo a las presas. Su dieta se basa principalmente en

diatomeas y dinoflagelados, los cuales constituyen el 50% de dicha dieta y estando presentes en menor escala los protozoarios, los crustáceos y los huevecillos; la diversidad de especies aumenta conforme disminuye la latitud. Asimismo, la dieta varía con la edad estando formada por un mayor volumen de diatomeas y dinoflagelados en los grupos más jóvenes y sustituyendo un volumen importante de estos últimos grupos por crustáceos y larvas de moluscos conforme aumenta la edad. Por otra parte, Power (1986) ha señalado que una de las principales causas de la mortalidad larval en la anchoveta es el canibalismo.

Por otro lado Baxter (1967) señala que el principal competidor de la anchoveta norteña es la sardina del Pacífico *Sardinops sagax*, aunque se sabe que la anchoveta también compete con los juveniles del pez sable *Anoploma fimbria* (Polanco et al 1987). A su vez la anchoveta constituye el principal alimento de la albacora, el atún de aleta azul y del bonito, entre otros.

Muchas poblaciones de peces de importancia económica, en especial los pelágicos (Smith et al 1989), se encuentran en áreas oceánicas segregadas en diferentes grupos o stocks desovadores formando subpoblaciones que se definen como una fracción de una población cuya principal característica es ser autosuficientes genéticamente (Marr 1957a). Son grupos de peces que se entrecruzan más o menos al azar entre ellos mismos y en ocasiones con otros sectores de la población total; son unidades naturales definidas por límites de

cruzamiento (Hedgecock 1986) y una de las ventajas de los estudios electroforéticos es precisamente identificar la estructura de tales poblaciones con base en características genéticas y de esta forma contribuir a la preservación de las poblaciones pesqueras dando criterios alternos para la planeación y administración de dichos recursos.

Se han realizado también algunos estudios electroforéticos en las anchovetas de otras regiones en el mundo, como es el caso de Kalinina y Kalinin (1984) y Kalinin y Kalinina (1985), quienes analizaron diferentes loci polimórficos en dos razas de la anchoveta *Engraulis encrasischolus* del Mar Negro y el Mar Azov, diferenciándolas ambas con base en las frecuencias alélicas de la isocitrato deshidrogenasa (IDH) y de las esterases de músculo.

Por su parte Grant (1985) utilizó marcadores bioquímicos para cuantificar el aislamiento genético entre los distintos stocks de la anchoveta africana *Engraulis capensis* no encontrando diferencias significativas en las correspondientes áreas de desove.

Los estudios de las isoenzimas han sido valiosos para detectar la estructura poblacional de diversos grupos de peces, como es el caso de los realizados por Seeb y Gunderson (1988), quienes cuantificaron la variabilidad genética y estructura poblacional de la perca del Pacífico (*Sebastes aulutus*) basándose en el análisis electroforético de 25 loci, mientras que Hassan-Al (1988) detectó polimorfismo presente en la enzima superoxidasa (SOD),

diferenciando dos subpoblaciones distintas de la anchoveta *Thryssa hamiltoni*, en aguas iraquíes.

En estudios realizados por Shaklee et al (1983) se evaluó el grado de heterocigocidad del Marlin azul (*Makaira nigricans*) identificando, a través del estudio de 23 sistemas enzimáticos, varios stocks correspondientes a distintas zonas de desove, con características oceanográficas diferentes.

Dempson et al (1988), registraron variaciones intrapoblacionales en las frecuencias alélicas de un locus monomérico en las esterases de suero sanguíneo del salmónido *Salvelinus fontinalis* del Atlántico Norte, encontrando diferencias entre las clases anuales de edad en relación a los cambios de temperatura estacionales.

En un análisis realizado por Jorstad y Nævdal (1989) en el bacalao del norte de Noruega *Gadus morhua*, se encontraron diferencias entre los distintos stocks reportados anteriormente de las muestras colectadas en diferentes años en una misma localidad, sugiriendo una estructura poblacional por mosaicos en relación a tiempo y espacio.

Okamoto (1989), realizó estudios en 17 loci resultantes de la expresión de once enzimas, encontrando diferencias en las frecuencias alélicas de la LDH-2, distinguiendo dos grupos de peces del género *Ammodytes* en el norte del Pacífico, genéticamente diferentes y aislados

reproductivamente, separándolos así, en dos especies simpátricas.

Han sido realizados también estudios electroforéticos de enzimas en túnidos con el fin de distinguir las diversas especies con base en las diferencias de alelos fijados en uno o más loci (Sharp, 1978, citado por Dotson y Graves 1982) de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, encontrándose que para cada tipo de atún existen alelos peculiares, que permiten su fácil identificación.

Existen asimismo un gran número de trabajos que tratan acerca de las posibilidades de la aplicación de la electroforesis en la resolución de problemas biológicos como la identificación de especies, de la filogenia (Avisé 1975 y Ferguson 1974), la selección natural (Shaw 1965, Kirpichnikov 1973a y 1981, Ferguson 1980), en la acuicultura (Hedgecock et al 1976), y en estudios de las estructuras poblacionales, (Allendorf y Utter 1979, Allendorf y Phelps 1981, Hedgecock 1986, Allendorf et al 1987, Smith 1989), entre otros.

Dentro de los usos más relevantes de la bioquímica genética sin duda se encuentra la detección de marcadores genéticos en poblaciones de organismos cultivados (Hedgecock et al 1976) para la creación de un stock reproductor, como es el caso de los estudios realizados por Allendorf y Utter (1973) en poblaciones de peces introducidas en algunos ríos del estado de Washington E.E.U.U. Dichos estudios también resultan valiosos cuando se desea saber los efectos

genéticos de la introducción de peces en poblaciones nativas.

Los datos genéticos provenientes de la electroforesis representan igualmente métodos útiles en la cuantificación de la selección natural, en donde continuamente se ha tratado de relacionar las propiedades de las isoenzimas con los factores ambientales (Tsuyuki y Wolf 1964, Kohen 1969), con respecto a la distribución geográfica de las poblaciones de peces y del mantenimiento selectivo del polimorfismo genético, lo que a su vez también tiene implicaciones importantes en el manejo de pesquerías.

De esta forma, la electroforesis se ha convertido en una herramienta muy importante capaz de resolver diversas problemáticas dentro de las ciencias biológicas, a través de la utilización de datos genéticos resultantes de la expresión directa de los genes involucrados en la conformación de las isoenzimas y otras proteínas. Esta metodología resulta de gran auxilio al generar datos que podrían complementar otros estudios enfocados a un mejor aprovechamiento de los recursos naturales, específicamente el de las pesquerías.

III.- OBJETIVO.

A fin de contribuir a una caracterización mas objetiva y al mejor manejo del importante recurso pesquero constituido por las anchovetas, se realizó un estudio de tres sistemas proteínicos (esterasas, hemoglobinas y transferrinas) provenientes de muestras representativas de las subpoblaciones central y sureña de la anchoveta *Engraulis mordax*, en búsqueda de marcadores genéticos que permitan una identificación poblacional, mediante metodologías que involucraron la menor complejidad posible en equipo y reactivos de tal modo que puedan ser implementados en el lugar en que sean requeridos por su accesibilidad y bajos costos.

IV.- MATERIALES Y METODOS.

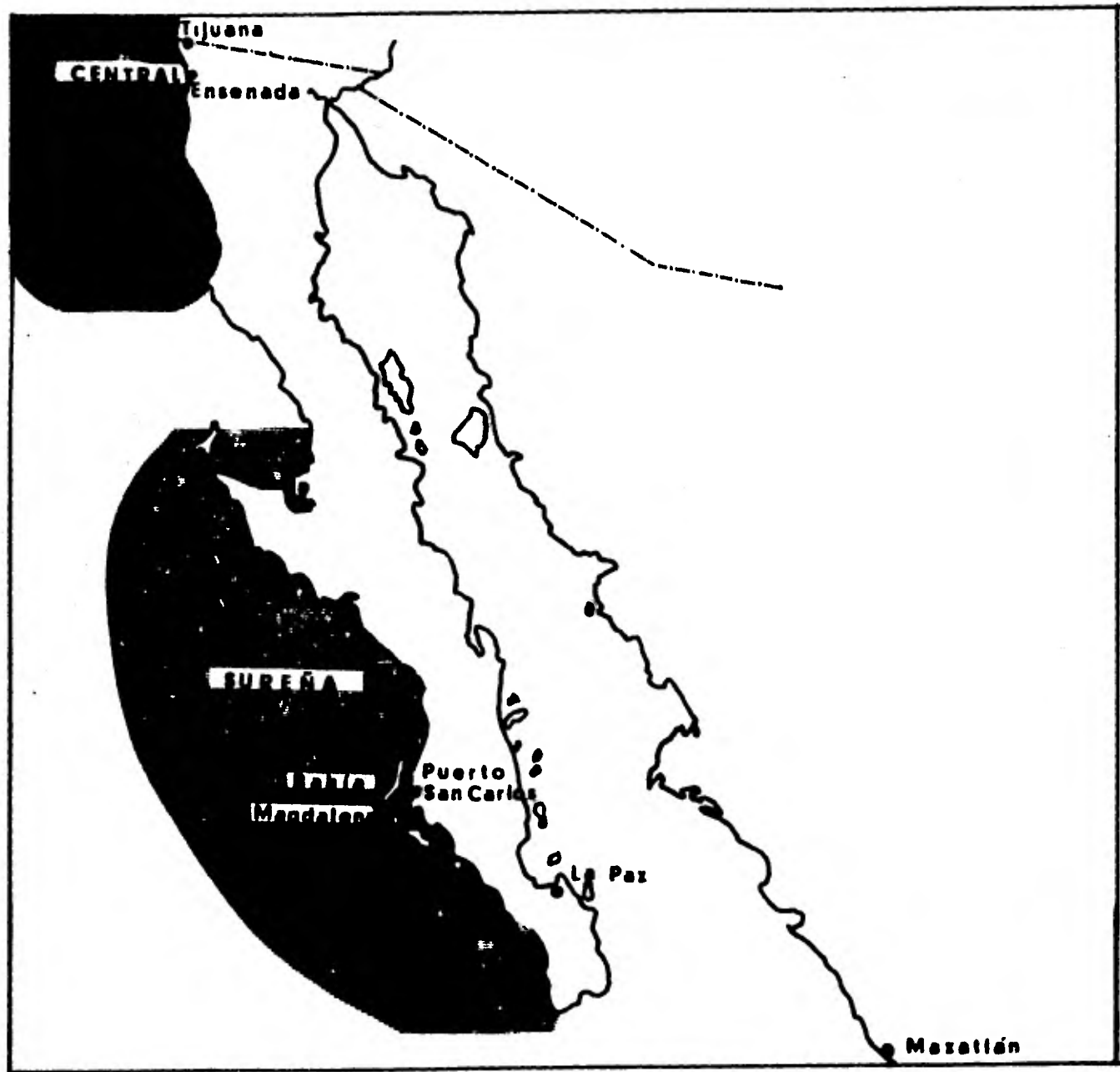
Las anchovetas fueron obtenidas a partir de varios muestreos realizados en dos localidades, tratando de que éstas estuvieran lo más lejanas posibles con el fin de evitar la sobreposición de las muestras debido a las constantes migraciones de estos organismos: el Puerto de Ensenada B.C. para la subpoblación central y el Puerto San Carlos B.C. Sur (Fig. 4.1) para la subpoblación sureña.

En el puerto de Ensenada, las anchovetas fueron obtenidas de los viveros de las embarcaciones de pesca deportiva, en donde son mantenidas vivas después de haberlas capturado en las bahías cercanas al puerto, hasta que son utilizadas como carnada en la pesca recreativa.

En Puerto San Carlos, en donde se localiza una de las principales plantas empacadoras de atún del País y es un punto importante de entrada de embarcaciones, los organismos fueron recolectados de las embarcaciones atuneras, las que a su vez colectan los peces en la Bahía Magdalena o en las costas de la isla localizada frente a esta bahía y que recibe el mismo nombre (Fig. 4.1).

Después de la recolecta de los organismos vivos, éstos fueron trasladados al Laboratorio de Genética de la Universidad Autónoma de B.C. en Ensenada, para la extracción de las muestras de sangre las cuales se realizaron a partir de la vena caudal del pez con jeringas hipodérmicas de 1ml y una solución de heparina al 2%. En otros casos se extrajeron

Figura 4.1. Localización de las zonas de muestreo para las subpoblaciones central (Ensenada) y sureña (Puerto San Carlos) de la anchoveta Engraulis mordax



con una solución de citrato de sodio 0.1M. Posteriormente, los peces fueron rotulados y congelados junto con las muestras de sangre para ser trasladadas al Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM. En Puerto San Carlos el proceso antes mencionado de extracción de las muestras de sangre se llevó a cabo a bordo de las embarcaciones de pesca de Atún.

Se realizaron cuatro muestreos durante el año de 1989 (Tabla 4.1); el primero en el puerto de Ensenada B.C. durante el mes de mayo, el segundo se llevo a cabo nuevamente en Ensenada en el mes de octubre y finalmente la última colecta se realizó en Pto. San Carlos B.C. Sur en diciembre en donde se obtuvieron, simultáneamente, organismos procedentes de la subpoblación central de Ensenada considerándose éste como el cuarto muestreo.

En años anteriores, 1987 y 1988, fueron realizados otros muestreos en las mismas localidades en donde el número de muestras de esterasas corridas fue pequeño (15), siendo las hemoglobinas y transferrinas los principales sistemas trabajados en dichas colectas (Tabla 4.2)

Las muestras de sangre extraídas fueron procesadas en el laboratorio según la técnica descrita por Vera-Muñoz (1985) para la extracción de las hemoglobinas, transferrinas y suero sanguíneo y la cual se muestra en la figura 4.2.

Fueron tomadas muestras de los tejidos de corazón, ojos y músculo, de los individuos colectados, para el corrimiento

	ENSENADA			SAN CARLOS		
FECHA	Musc	Ojos	Cor	Musc	Ojos	Cor
MAY-1989	63	36	46	--	--	--
OCT-1989	33	33	33	--	--	--
NOV-1989	38	38	52	100	100	93
TOTAL	134	107	131	100	100	93

Tabla 4.1.- Recolectas realizadas y número de organismos procesados de los diferentes tejidos analizados para las subpoblaciones central y sureña de E. mordax.

FECHA	ENSENADA No DE ORG	SAN CARLOS No DE ORG.
JUN-1988	--	11
OCT-1988	37	--
MAY-1989	61	--
AGO-1989	--	--
OCT-1989	29	--
NOV-1989	--	45
TOTAL	127	56

Tabla 4.2.- Número de organismos recolectados durante los muestreos realizados en las subpoblaciones central y sureña de *Engraulis mordax*.

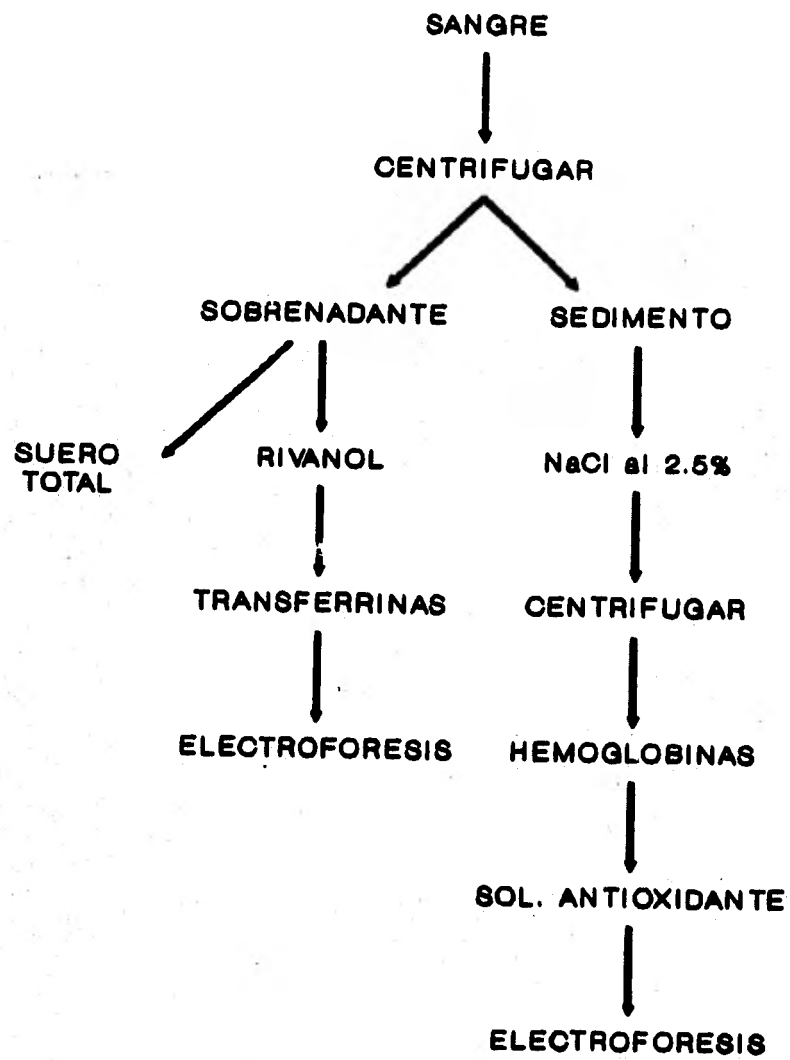


Figura 4.2.- Técnica utilizada para la obtención de las hemoglobinas y transferrinas a partir de las muestras de sangre de los organismos colectados.

de las esterasas. La solución extractante utilizada fué el buffer Tris-Glicina pH 8.9 en todos los casos. Después de extraídas las muestras fueron refrigeradas junto con la solución de buffer, para la obtención de las proteínas de cada tejido por difusión de las mismas.

Las muestras fueron corridas en geles de poliacrilamida mediante electroforesis horizontal, en un equipo LKB consistente de dos cubas y un sistema de refrigeración, a 450mA y 8 grados centígrados durante aproximadamente dos horas según la técnica descrita por Fehrström y Moberg (1977). El sistema de buffers utilizado fué discontinuo, constando de una solución de Tris-Glicina pH 8.9 para el cátodo y otra de Tris-HCl pH 8.1 para el ánodo.

Los geles utilizados fueron preparados a una concentración del 10% mediante una solución de acrilamida, bisacrilamida, persulfato de amonio, buffer Tris-Glicina pH 8.9 y TEMED, permitiendo su polimerización y después se almacenaron en refrigeración hasta su utilización.

Después de los corrimientos electroforéticos, los geles fueron teñidos mediante la tinción para las esterasas descrita por Shaw y Prasad (1970), utilizándo como sustrato el alfa y beta naftil acetato (Díaz-Jaimas 1987) y una sal de diazonio (Azul rápido RR) para la detección de la actividad de la enzima y posteriormente se obtuvieron los patrones de las esterasas de músculo, ojos, corazón y suero sanguíneo.

Las hemoglobinas, transferrinas y suero sanguíneo fueron reveladas a través de la tinción convencional para proteínas mediante la utilización de una solución teñidora a base de metanol, ácido acético y azul Coomassie.

Posteriormente a la tinción, los geles fueron puestos en una solución desteñidora por varias horas y finalmente en una solución preservadora para su análisis posterior.

El análisis de los resultados consistió de tres partes para cada sistema trabajado: a) La obtención de los electroferogramas y con estos los fenotipos y sus frecuencias, b) El cálculo de las frecuencias genotípicas esperadas y la prueba de hipótesis, y c) La obtención de los dendogramas y las distancias taxonómicas.

a) Elaboración de los electroferogramas.

Después de los corrimientos y la respectiva tinción de los geles, éstos fueron puestos sobre un negatoscopio para la obtención de los electroferogramas los que permitieron detectar varios fenotipos, que se muestran en las figuras 5.2a, b, c, d, 5.4 y 5.5 con las respectivas frecuencias de aparición de cada fenotipo y de cada banda (electromorfo) resuelta.

La nomenclatura de los loci detectados así como su interpretación fué establecida de acuerdo con Allendorf y Utter (1979) y Utter et al (1987), cuyos criterios se basan usualmente en la evidencia de patrones de bandas predecibles en los heterocigotos; cuando se trata de un monómero, dímero y tetrámero dados por dos, tres y cinco bandas

respectivamente (Shaw 1965; Utter et al 1974). Otra evidencia importante es la expresión paralela de la variación en diferentes tejidos de un organismo, ya que tal expresión es una confirmación del polimorfismo genético. La nomenclatura se basa en una abreviación para designar a la enzima que representa el loci codificando esa proteína, y cuando se da el caso de formas múltiples de una enzima, se incluye un número que va en ascenso partiendo de la región más anódica del gel.

b) Frecuencias genotípicas.

La obtención de las frecuencias genotípicas esperadas del locus polimórfico se realizó a partir de las frecuencias observadas mediante la siguiente fórmula (Smith 1970):

$$P = (2x + y) / 2n$$

$$Q = (y + 2z) / 2n$$

Donde: $x+y+z=n$

x, z son los homocigotos

y son los heterocigotos

Del procedimiento anterior se obtuvieron las frecuencias esperadas en base a la ley de Hardy-Weinberg las cuales fueron evaluadas a través de una prueba de Chi cuadrada (Cannings y Edwards 1969, Elston y Forthofer 1977) con un grado de libertad, para establecer los niveles de

significancia de las diferencias encontradas entre las frecuencias observadas y calculadas.

El grado de heterocigocidad (h) como una medida de la variabilidad, para el locus polimórfico reportado fué calculado mediante; $h=1-X_i$ donde X_i es la frecuencia del alelo i (Nei y Roychoudhury 1974, Shaklee et al 1983).

c) Elaboración de dendogramas.

Los dendogramas fueron obtenidos mediante matrices que incluyeron los niveles de las bandas y su frecuencia de aparición en cada fenotipo resuelto, a partir de las cuales se calcularon las *distancias taxonómicas promedio (DTP)* Sokal (1961). Este coeficiente se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$DTP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - X_{ik})^2}{n}}$$

Donde:

n = número de caracteres (columnas)

X_{ij} = valor del caracter i en la especie j

X_{ik} = valor del caracter i en la especie k

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

El cálculo de la *DTP* y la elaboración de los dendogramas se realizó mediante el programa estadístico *SYSTAT* versión 3.0 (Copyright 1986) el cual utiliza el método de ligamiento simple sugerido por Crisci y López (1983) para la elaboración de los dendogramas que señalan la *DTP* entre cada uno de los muestreos realizados.

V.- RESULTADOS.

En las figuras 5.2a, b, c, d, 5.4 y 5.5 se muestran los fenotipos encontrados así como su frecuencia de aparición en los corrimientos de hemoglobinas, transferrinas y esterases de los diferentes tejidos analizados, tanto de la subpoblación central (Ensenada) como de la sureña (Pto. San Carlos). Asimismo, en la parte inferior se muestra el número total de electromorfos detectados así como su porcentaje de aparición (frecuencia relativa) en los corrimientos.

ESTERASAS.-

Los patrones electroforéticos de las esterases encontradas en los tejidos de músculo, ojos, corazón y suero sanguíneo (Figuras 5.2a, b, c y d, respectivamente), muestran una gran similitud en cuanto al número y movilidad electroforética de las bandas detectadas, lo cual indica al parecer, que no existe heterogeneidad de esta enzima en los tejidos analizados. Existen, sin embargo, excepciones en el plasma sanguíneo (Fig. 5.2d) en donde estuvo ausente la banda correspondiente a una proteína detectada en músculo, corazón y ojos con una frecuencia relativa del 100% (Figs. 5.2a, b y c). Los fenotipos Ae-Ge pertenecen al puerto de Ensenada, mientras que los señalados con Ap-Fp corresponden a Puerto San Carlos.

ESTERASAS DE MUSCULO

e

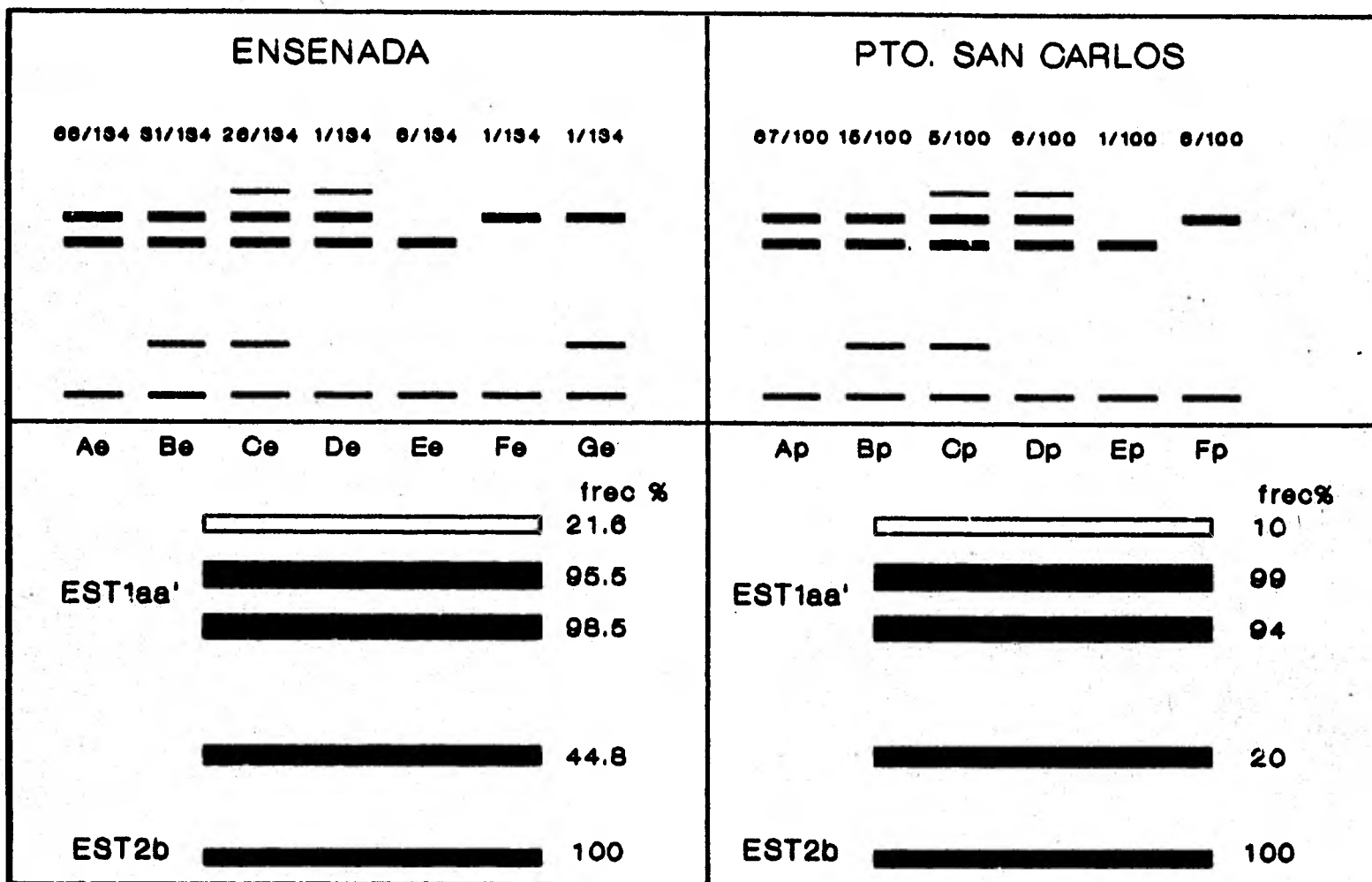


Figura 5.2a.- Fenotipos de las esterasas de músculo y frecuencias de aparición de cada electromorfo en las subpoblaciones central y sureña de *E. mordax*.

ESTERASAS DE OJOS

e

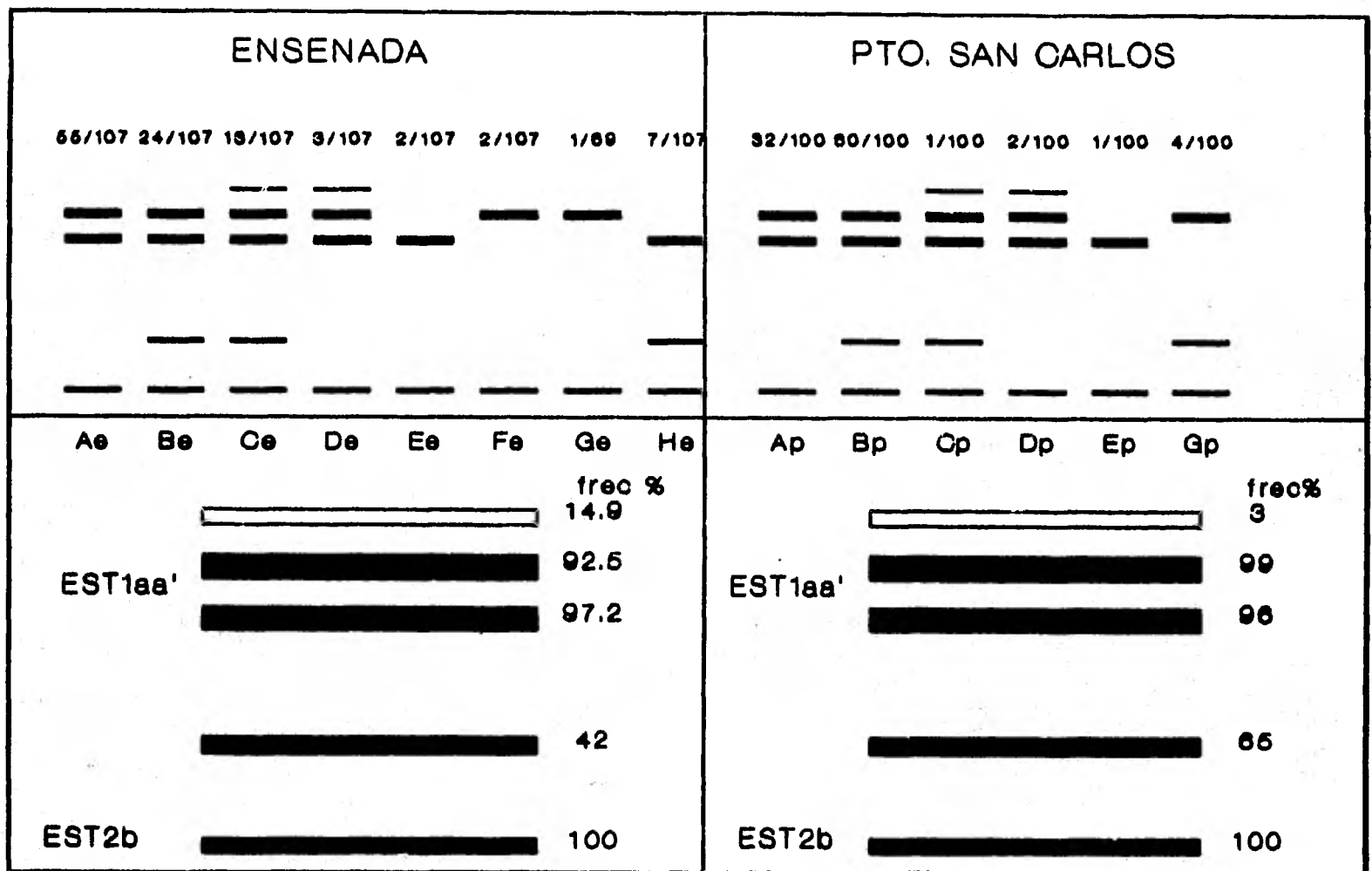


Figura 5.2b.- Fenotipos obtenidos de las esterasas de ojo y frecuencias de aparición de cada electromorfo en las subpoblaciones central y sureña de la anchoveta *E. mordax*.

ESTERASAS DE CORAZON

e

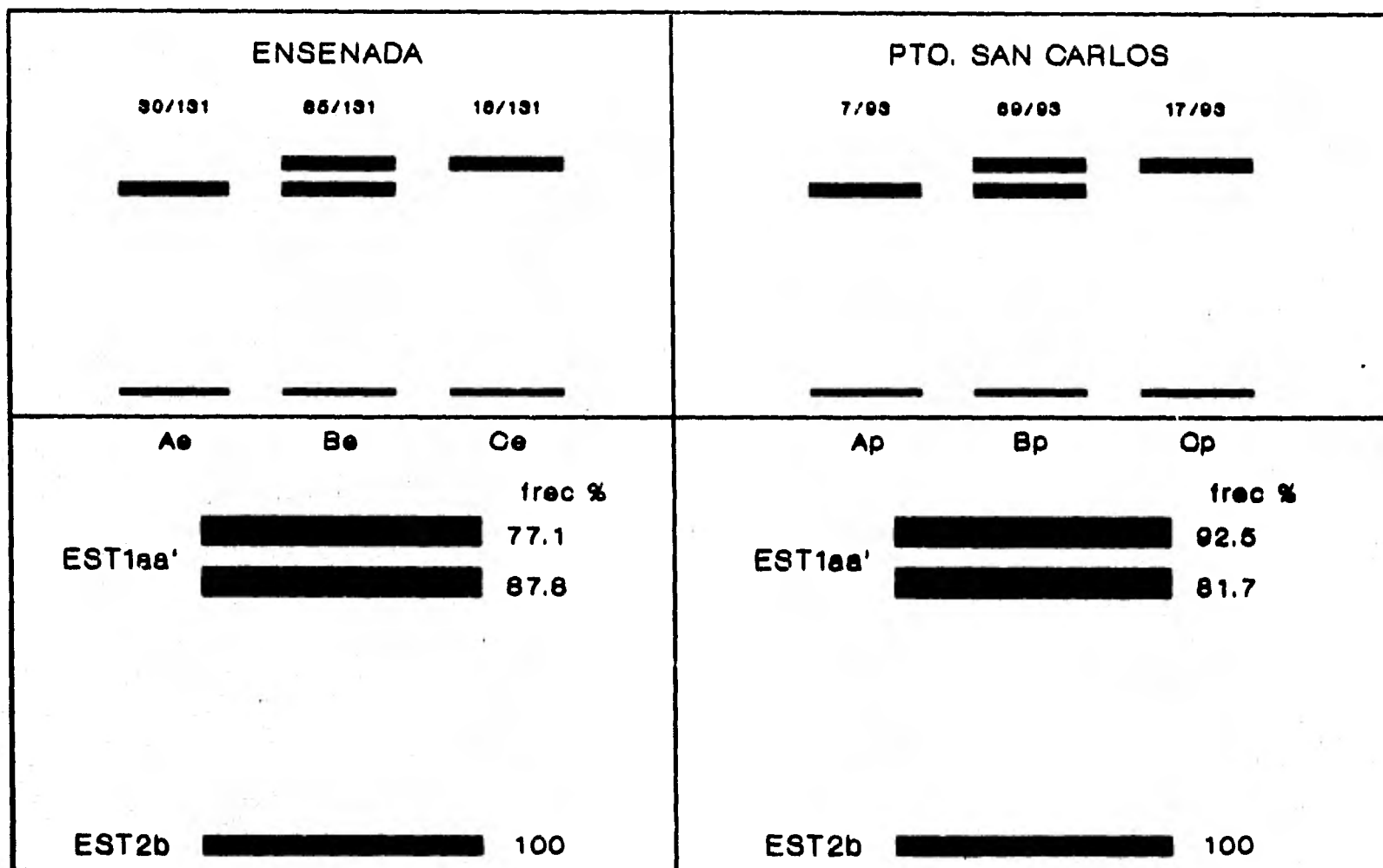


FIG 5.2c.- Fenotipos obtenidos y frecuencias de aparición de cada electromorfo de las esterasas de corazón en las subpoblaciones central y sureña de la anchoveta *E. mordax*

ESTERASAS DE SUERO SANGUINEO

①

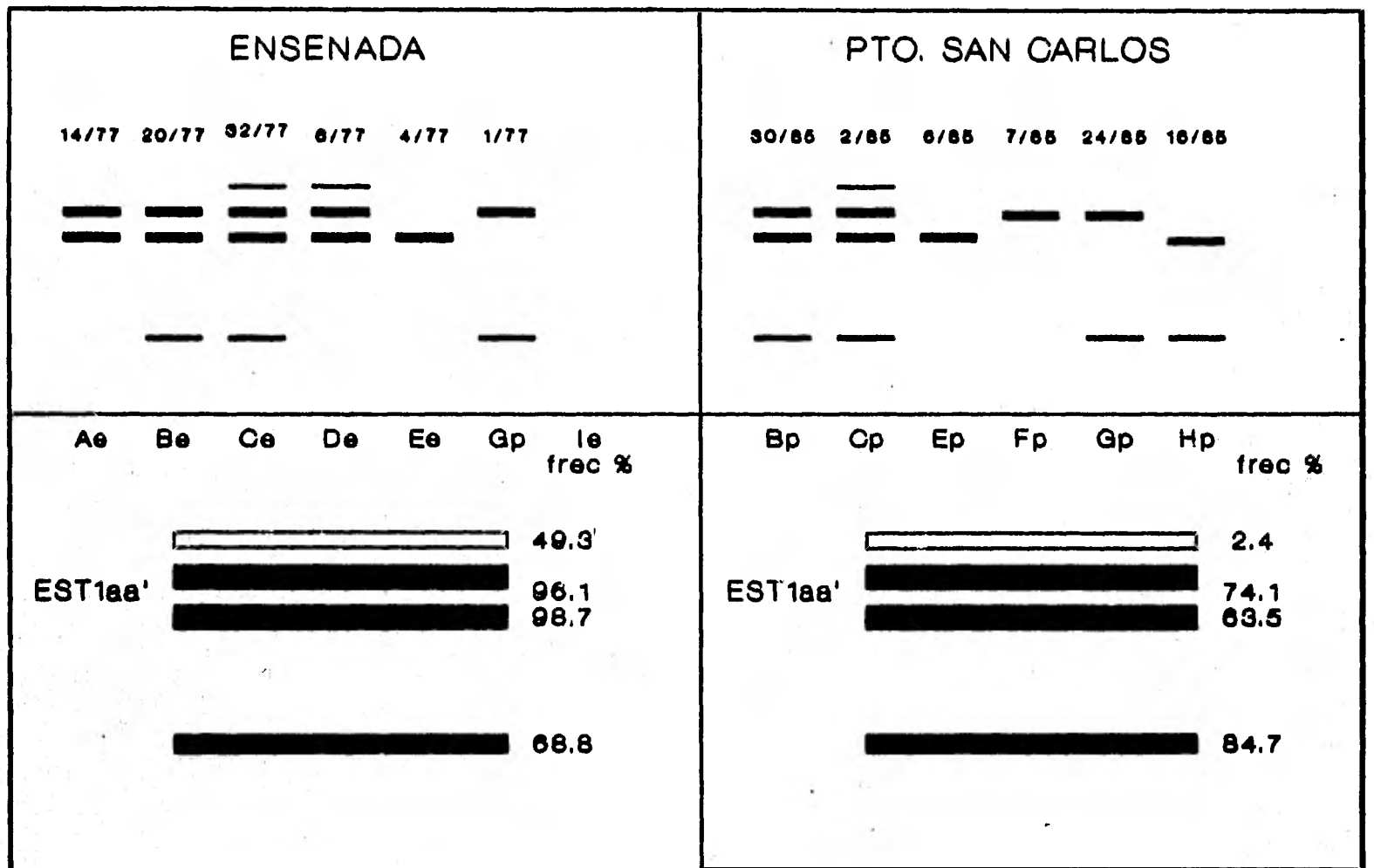


Fig 5.2d.- Fenotipos obtenidos de las esterases de suero sanguíneo y frecuencias de aparición de cada electromorfo en las subpoblaciones central y sureña de E. mordax.

El análisis de los fenotipos y sus patrones de bandas en cada tejido mostraron la presencia de dos enzimas, producto de dos loci distintos, determinados en base a las diferencias en sus movilidades electroforéticas. Estos fueron denominados a partir de la región anódica del gel como, *EST1aa'* y *EST2b* de acuerdo a los criterios de nomenclatura de Allendorf y Utter (1979).

La enzima correspondiente al locus *EST2b* esta presente con una frecuencia del 100% en el suero de músculo, ojos y corazón, mientras que estuvo ausente en el suero sanguíneo.

El número, la frecuencia de aparición de las bandas y su localización en el gel indican la presencia de polimorfismo en el locus *EST1aa'*, el cual se comporta como de estructura monomérica. Estas proteínas se encuentran estructuradas por una sola unidad (es decir, una sola cadena polipeptídica), de tal forma que si esta proteína es codificada por dos alelos codominantes (*a* y *a'*), estos producirán cada uno una cadena denominada *A* y *A'* respectivamente, distinguibles por su movilidad electroforética, originando así tres diferentes fenotipos en el gel, dos de los cuales corresponden a los homocigotos representados por una banda sencilla y los heterocigotos representados por las dos bandas presentes en los homocigotos (Ver fig. 5.1).

Se detectó también la presencia de dos electromorfos no definidos e inconsistentes en cuanto a su intensidad y presencia en el gel; uno en la zona intermedia, entre los

GENOTIPOS	aa (homocigoto)	aa' (heterocigoto)	a'a' (homocigoto)	SUBUNIDADES
FENOTIPOS Monòmero	————	———— ————	————	A A'
Dimero	————	———— ———— ————	————	AA AA' A'A'
Tetràmero	————	———— ———— ———— ————	————	AAAA AAAA' AAA'A' AA'A'A' A'A'A'A'

Fig. 5.1.- Fenotipos electroforètics cuando un locus es expresado para una proteina monomèrica, dimèrica y tetramèrica y con dos alelos codominantes (a y a'). Utter et al. 1987.

dos loci detectados, y el otro con una movilidad muy similar a los alelos del locus polimórfico. En el primer caso no se tuvo la certeza de que se tratara de una enzima pues la banda en el gel apareció ténueamente después de haberse realizado la tinción histoquímica para las esterasas y posteriormente, cuando el gel fué puesto en tinción convencional para proteínas, claramente se tñó con azul Coomassie, lo que no sucedió con las esterasas detectadas en un principio con la tinción histoquímica, por lo que posiblemente no se trate de una enzima. Hay que señalar que los residuos del azul Rápido RR, después de la actividad enzimática se impregnan fuertemente en la totalidad del gel y en los recipientes utilizados para contenerlo. Posiblemente represente, asimismo, una enzima cuya especificidad para llevar a cabo su actividad sea en condiciones fisiológicas diferentes a las utilizadas en el estudio.

El segundo electromorfo, el cual presentó una actividad muy reducida, posiblemente corresponda a un artefacto originado por el almacenamiento y/o preservación de las muestras o diferentes condiciones ambientales o patológicas de los organismos (Utter et al 1974). No se registró evidencia consistente con la cual asociar este electromorfo con los alelos del locus *EST1aa'* por su proximidad con estos.

Las frecuencias alélicas del locus *EST1aa'* se presentan en la tabla 5.2 en donde puede observarse que existen

	MUSCULO		OJOS	
ALELO	ENSENADA	SAN CARLOS	ENSENADA	SAN CARLOS
a	0.481	0.527	0.467	0.51
a'	0.519	0.472	0.533	0.49
	CORAZON		SUERO SANGUINEO	
ALELO	ENSENADA	SAN CARLOS	ENSENADA	SAN CARLOS
a	0.447	0.554	0.461	0.554
a'	0.553	0.446	0.538	0.446

Tabla 5.2.- Frecuencias alélicas del locus EST1aa' de las esterasas en los diferentes tejidos analizados de las subpoblaciones central y sureña de E. mordax.

pequeñas diferencias entre las frecuencias de los alelos a y a' de este locus en relación a la localidad. La frecuencia del alelo a' mostró una ligera tendencia a estar más frecuentemente representado en la subpoblación central (Ensenada) mientras que la frecuencia del alelo a se presentó en una proporción ligeramente mayor en la subpoblación sureña (Pto. San Carlos) en cada uno de los tejidos analizados.

Las frecuencias genotípicas observadas muestran diferencias significativas con respecto a las esperadas, según las expectativas de Hardy-Weinberg, en cada tejido (Tablas 5.3a y b), de acuerdo a los valores obtenidos del análisis estadístico de χ^2 cuadrada ($p=0.05$, 1 gl), indicando la posible presencia de algún factor de tipo genético o ambiental interviniendo en la desviación de las frecuencias en las poblaciones analizadas (Tabla 5.1). En la obtención de las frecuencias no se consideraron los genotipos que presentaron la banda con movilidad similar a la de los alelos de este locus.

	MUSCULO	OJOS	CORAZON	SUERO SANG.
ENSENADA	75.5	51.2	11.37	23.2
S. CARLOS	64.4	80.6	21.3	5.8

Tabla 5.1.- Valores de Chi cuadrado resultantes de la estimación de las diferencias entre las frecuencias observadas y esperadas de los genotipos obtenidos para el locus EST1aa'.

MUSCULO					
LOCUS	GENOTIPO	ENSENADA n=105		SAN CARLOS n=90	
		frec obs	frec esp	frec obs	frec esp
EST1aa'	aa	2	24	6	25
	aa'	97	53	83	45
	a'a'	6	28	1	20

OJOS					
LOCUS	GENOTIPO	ENSENADA n=91		SAN CARLOS n=98	
		frec obs	frec esp	frec obs	frec esp
EST1aa'	aa	3	20	3	25
	aa'	79	45	92	48
	a'a'	9	26	1	23

Tabla 5.3a.- Frecuencias genotípicas del locus EST1aa' de las esterasas de músculo y ojos en las subpoblaciones central y sureña de *E. mordax*.

CORAZON					
LOCUS		ENSENADA n=131		SAN CARLOS n=93	
EST1aa'	GENOTIPO	frec obs	frec esp	frec obs	frec esp
	aa	16	26	17	18
	aa'	85	66	69	47
	a'a'	30	39	7	28

SUERO SANGUINEO					
LOCUS		ENSENADA n=99		SAN CARLOS n=88	
EST1aa'	GENOTIPO	frec obs	frec esp	frec obs	frec esp
	aa	1	8	31	25
	aa'	34	19	30	41
	a'a'	4	12	22	17

Tabla 5.3b.- Frecuencias genotípicas del locus EST1aa' de las esterasas de corazón y suero sanguíneo en las subpoblaciones central y sureña de *E. mordax*.

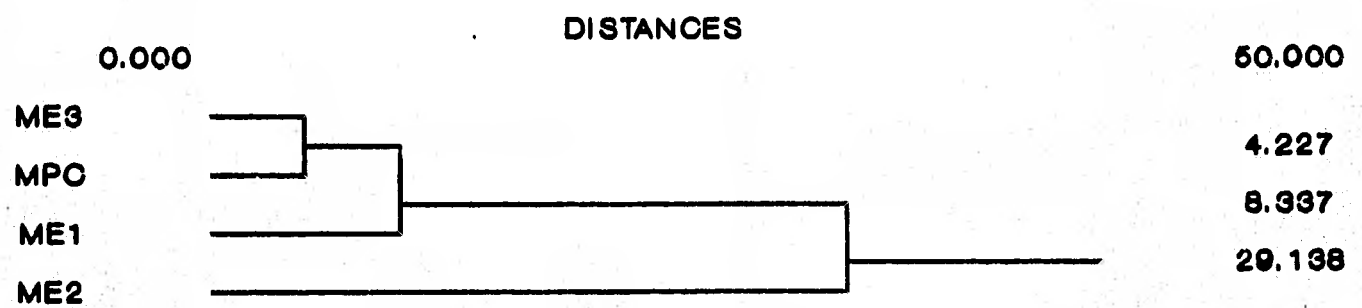
Los dendogramas obtenidos a partir de las matrices de datos de frecuencia por cada banda se muestran en las figuras 5.3a y b. Cabe mencionar que en la realización de las matrices se tomaron en cuenta todos los electromorfos resueltos en los geles y que son mostrados en las figuras 5.2 a, b, c y d junto con sus frecuencias de aparición. Se observan, asimismo, las distancias taxonómicas promedio (DTP) entre los diferentes muestreos en las dos subpoblaciones y para cada tejido estudiado. Los dendogramas muestran una mayor identidad o similitud entre las colectas 1 y 2 de Ensenada, principalmente en las muestras de corazón y suero sanguíneo (DTP= 5.16 y 16.38 respectivamente) separándolos de las muestras de Puerto San Carlos, por valores de DTP= 7.646 y 27.34 (Fig. 5.3b).

Los dendogramas de las esterases de músculo no presentan similitud entre las muestras de Ensenada, asociándose la colecta 3 con la de Puerto San Carlos (DTP=4.22), mientras que en ojos ocurre algo similar, aunque existe mayor similitud entre las muestras 1 y 3 de Ensenada separándolas claramente de la colecta de Puerto San Carlos (DTP=20.56) Figura 5.3a. Lo anterior podría confirmar el esquema sugerido por Hedgecock et al (1989) acerca del mosaico de entidades desovadoras dentro de la misma subpoblación central de Ensenada.

HEMOGLOBINAS.-

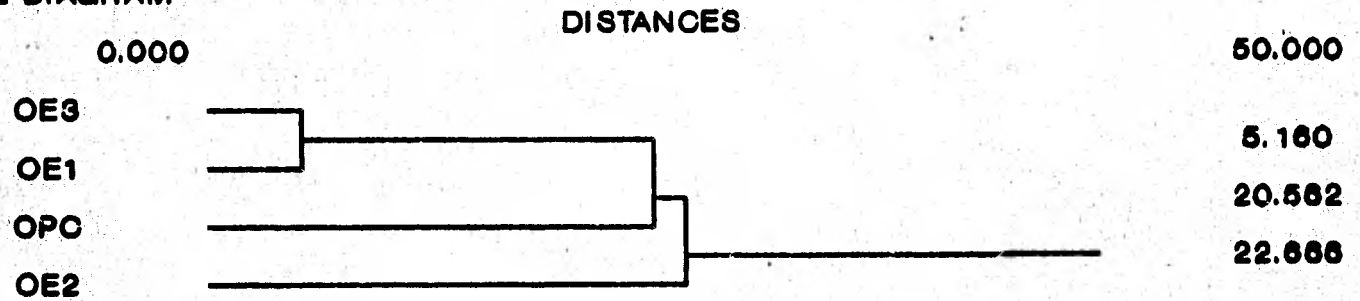
MUSCULO

TREE DIAGRAM



OJOS

TREE DIAGRAM



E-Ensenada

PC-P. San Carlos

Fig. 5.3a.- Dendogramas obtenidos para las diferentes colecciones en las esterases de músculo y ojos de las subpoblaciones central y sureña de la anchoveta *Engraulis mordax*.

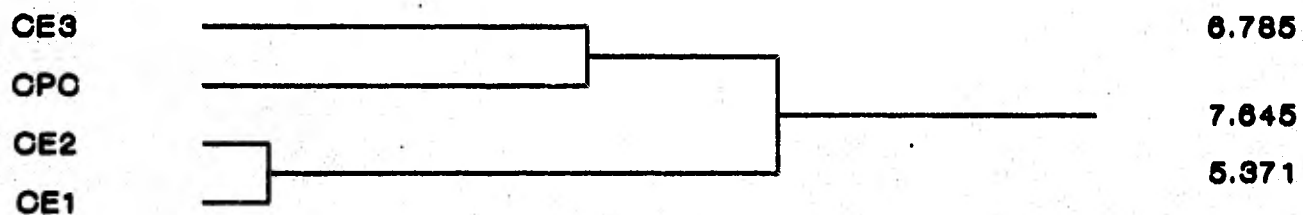
CORAZON

TREE DIAGRAM

5.000

DISTANCES

10.000



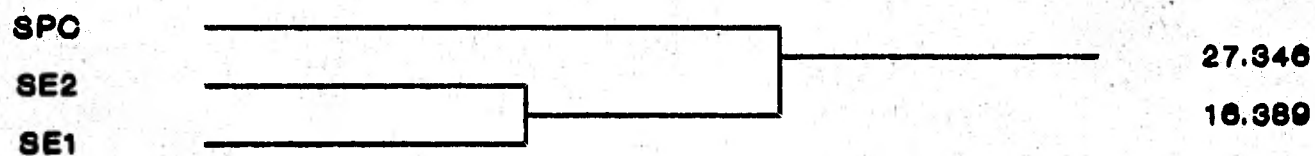
SUERO SANGUINEO

TREE DIAGRAM

0.000

DISTANCES

50.000



E=Ensenada

PC=P. San Carlos

Fig. 5.3b.- Dendogramas obtenidos para las distintas colecciones realizadas de las esterases de corazón y suero sanguíneo en las subpoblaciones central y sureña de E. modax

Los patrones electroforéticos de las hemoglobinas en las subpoblaciones no mostraron polimorfismo alguno (fig. 5.4). Se presentaron tres bandas muy marcadas con un porcentaje de aparición del 100% por lo que no podrían ser considerados como genes polimórficos. Asimismo se detectó la presencia de bandas ténues y delgadas asociadas a cada uno de los electromorfos principales, pudiéndose considerar variantes de estas proteínas, tal vez originadas por su degradación durante el transporte y almacenamiento o interaccionar con las sustancias preservadoras de las muestras, puesto que estas moléculas presentan una gran inestabilidad, especialmente en peces (Sharp 1973), dificultando con esto la discriminación entre los fenotipos y sus productos de degradación.

TRANSFERRINAS.-

Los resultados en los patrones electroforéticos de las transferrinas muestran la presencia de dos alelos codominantes con estructura monomérica, que han sido denominados como *TfA* y *TfA'* (fig. 5.5).

En la tabla 5.4a y b se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para el locus polimórfico correspondiente a las transferrinas. Dichas frecuencias no mostraron diferencias significativas en relación a las esperadas de acuerdo con Hardy-Weinberg (Ensenada; $\chi^2 = 0.166$ y San Carlos; $\chi^2 = 1.99$; $p = 0.05$ 1gl).

HEMOGLOBINAS

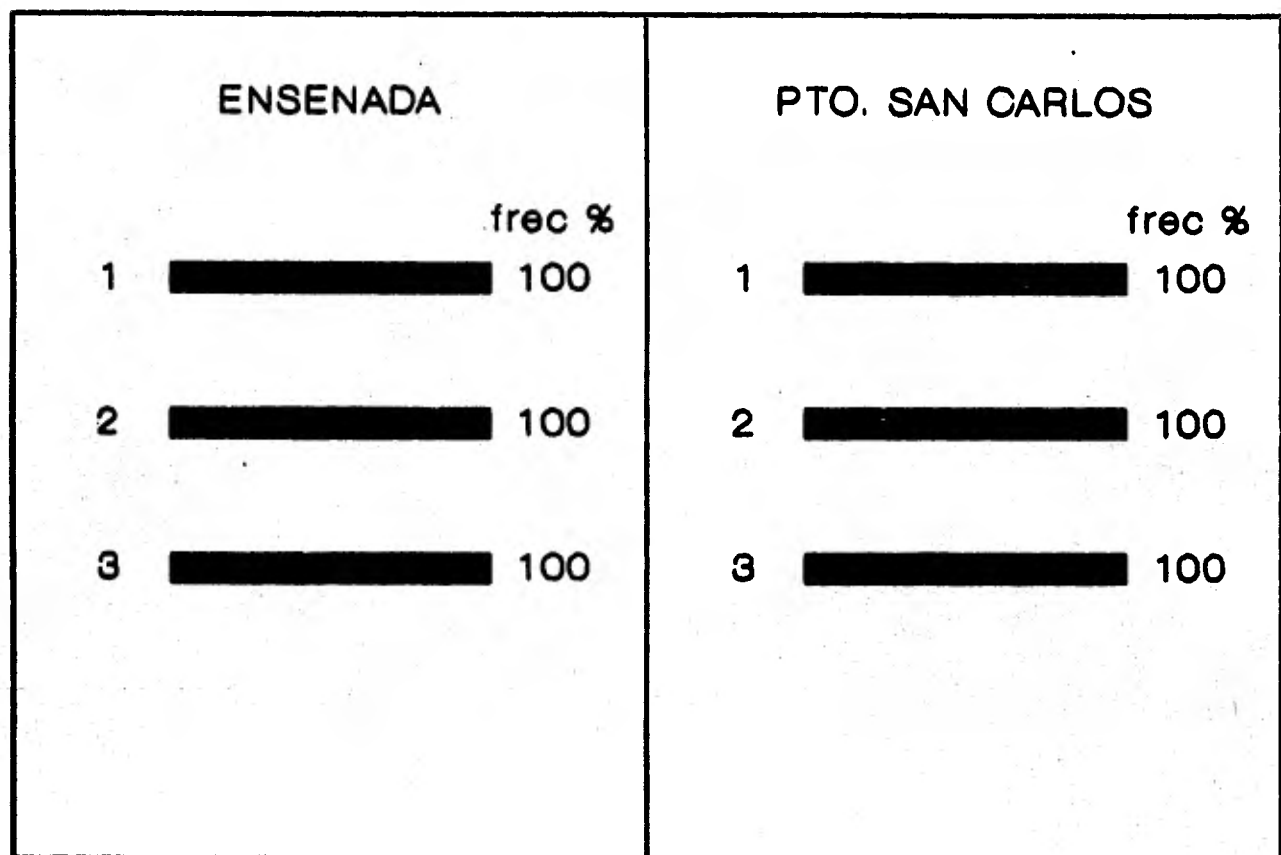


Fig. 5.4.- Patrones electroforéticos y frecuencia relativa de las bandas obtenidas en las hemoglobinas de la anchoveta *Engraulis mordax*.

TRANSFERRINAS

e

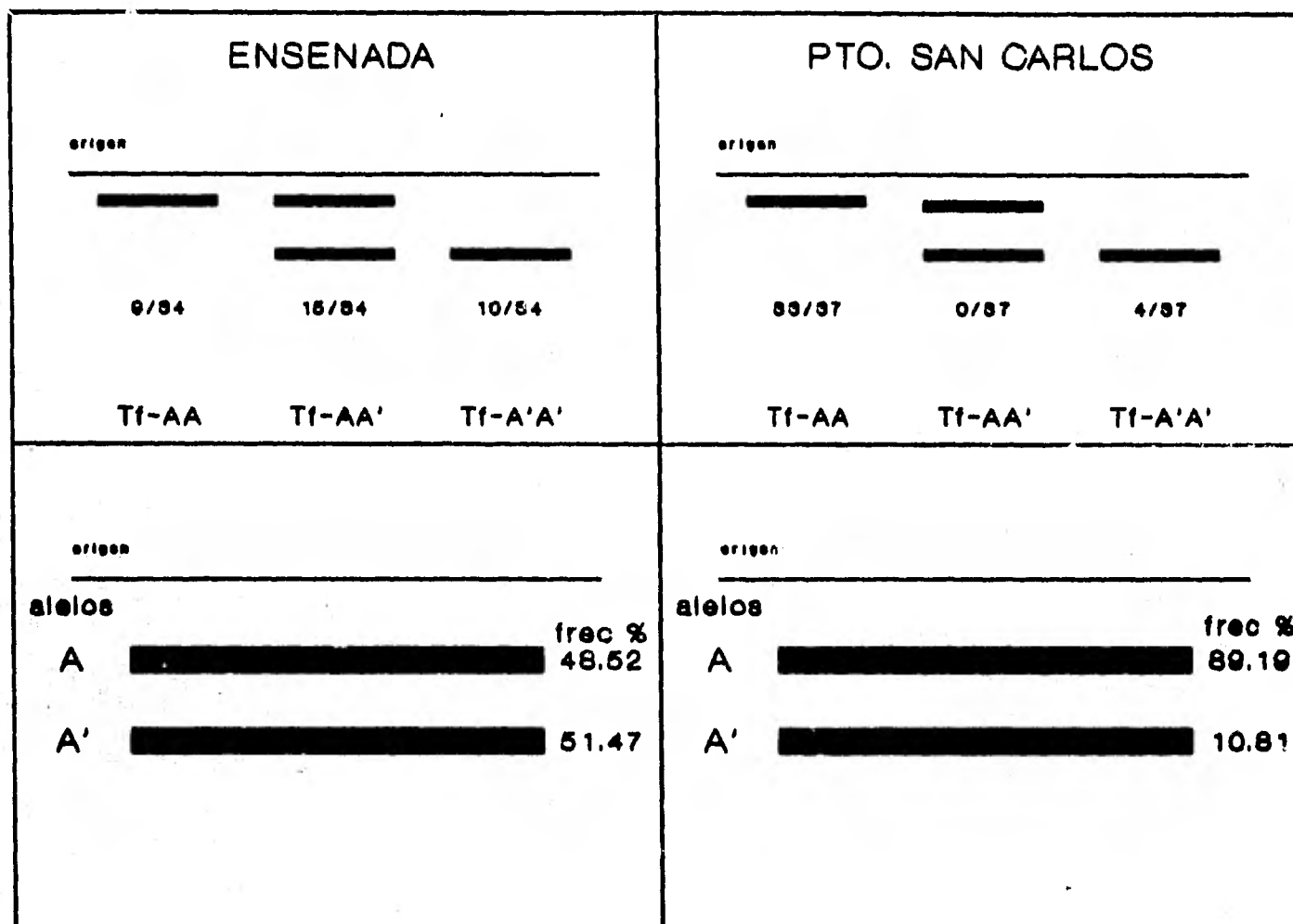


Fig 5.5.- Patrones electroforéticos de las transferrinas y frecuencias de los genotipos correspondientes, en donde se aprecia la estructura monomérica de esta proteína.

a

ALELO	ENSENADA	SAN CARLOS
TfA	0.485	0.892
TfA'	0.515	.108

b

GENOTIPO	ENSENADA	SAN CARLOS
TfAA	9	33
TfAA'	15	0
TfA'A'	10	4

Tabla 5.4.- Frecuencias alélicas (a) y genotípicas (b) del locus polimórfico TfAA' en las transferrinas de las subpoblaciones central y sureña de E. mordax.

Sin embargo, la distribución de las frecuencias no es un criterio consistente para diferenciar ambas subpoblaciones a causa principalmente del tamaño de la muestra, el cual aparentemente no permitió detectar diferencias significativas en las frecuencias alélicas de la subpoblación central de Ensenada (tabla 5.4a y b) distribuyéndose éstas de manera poco heterogéneas.

En lo referente a la subpoblación sureña dichas diferencias sí pudieron ser constatadas mediante la distribución de las frecuencias alélicas, en donde hay una notable presencia de individuos homocigos con genotipo T_{FAA} (tabla 5.4a), es decir, un valor alto en la frecuencia del alelo T_{FA}, por el contrario en la subpoblación central de Ensenada existe cierta homogeneidad en la distribución de las frecuencias alélicas no permitiéndose establecer diferencias significativas entre ambas subpoblaciones.

La alta frecuencia del alelo T_{FA} en la subpoblación sureña, en relación a las observadas en la central, sugiere la probabilidad de la existencia de flujo genético interviniendo en la distribución de las frecuencias.

VI.- DISCUSION.

La gran similitud en los patrones electroforéticos de las esterasas en los distintos tejidos analizados demostró la presencia de dos loci (*EST1aa'* y *EST2b*). Aunque existieron diferencias en la expresión y en la proporción de individuos homócigos y heterócigos en cada tejido; es decir, mientras que el mismo organismo presentó genotipo heterócigo en un tejido particular, a su vez en otro tejido mostró genotipo homócigo. Esto nos hace pensar que posiblemente exista más de un gen codificado por el locus polimórfico, en estos organismos, manifestándose uno u otro en relación al tejido correspondiente como resultado de una duplicación de genes según como lo registraron Dawson y Jaeger (1970) y Ohno (1970).

Uno de los principales objetivos del análisis de las esterasas en diferentes tejidos fue registrar la expresión paralela de las variantes enzimáticas para fundamentar el polimorfismo genético detectado, lo cual fue confirmado por la variación obtenida en cada tejido en que fué analizado el locus *EST1aa'*. Asimismo la proporción y distribución de las frecuencias alélicas del locus polimórfico en cada tejido y cada subpoblación, reafirman el criterio para el establecimiento de la variación enzimática.

Con base en los criterios mencionados, se estableció una estructura monomérica para la *EST1aa'* aunque uno de los electromorfos detectados cuya movilidad es muy similar a los

alelos de este locus podrían sugerir una estructura dimérica (donde el heterocigoto estaría representado por un patrón de tres bandas) o, aún más, la presencia de dos loci polimórficos con idéntica movilidad en el gel como ha sido citado en estudios realizados por Allendorf y Utter (1973) en salmónidos.

Hubo gran dificultad en establecer los criterios para asignar dicha estructura a la enzima a no ser por la detección de los escasos organismos homocigotos, fué de esta forma como pudo ser visualizada la localización y ubicación de las bandas correspondientes a los alelos de los organismos heterocigos y homocigos en dicho locus descartando relación alguna entre el alelectromorfo mencionado y los alelos de la EST1aa'. De esta forma y con base en la evidencia en cuanto a la localización de las bandas en el gel y la obtención de los fenotipos correspondientes se atribuyó una estructura monomérica a esta enzima, codificada por el locus mencionado y constando de dos alelos codominantes.

La estructura monomérica para las esterasas ha sido reportada ya por varios autores en diferentes organismos (Kohen 1969, Kohen et al 1971, Dampson et al 1988, Hedgecock et al 1989). Particularmente resulta de interés el trabajo de Hedgecock et al (1989) en el cual se detectó la estructura monomérica en las esterasas de la sardina del Pacífico (*Sardinops sagax*) y específicamente en la subpoblación central de la anchoveta, motivo de el presente

estudio, lo cual coincide con los resultados obtenidos aquí en relación a esa misma especie y subpoblación.

Las diferencias apenas apreciables en la distribución de las frecuencias alélicas del locus polimórfico (Tabla 5.2) podrían interpretarse como el resultado del poco grado de diferenciación entre estas subpoblaciones las cuales, al parecer, mantienen un sustancial flujo genético.

El valor del índice de fijación de Wright (1965) resultante de : $F_{st} = 1 - H_s/H_t$ (donde, H_s es el promedio de la identidad entre dos alelos muestreados de la misma subpoblación , mientras que H_t es el promedio de identidad entre dos alelos muestreados de la población total), es una medida del grado de diferenciación entre subpoblaciones y es obtenido a partir de las frecuencias alélicas de un locus polimórfico. El valor de la F_{st} obtenido para el locus *EST1aa'* se acerca al cero ($F_{st} = 0.0018$) lo que indica muy poca divergencia genética entre ambas subpoblaciones (Allendorf y Phelps 1981).

Asimismo el índice de panmixia ($P = F_{st} - 1$) entre ambas subpoblaciones es alto, evidenciando un flujo bastante considerable entre ambos demes, tal vez como resultado de los movimientos migratorios que realizan estos organismos durante su época de reproducción.

El índice de fijación es también un indicador de la homogeneidad presente en la distribución de las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones, lo que conduce a la aceptación de la hipótesis nula referente a la similitud en

esas frecuencias y señala un considerable flujo de genes como una de las principales causas de dicha distribución de los alelos en la población total.

La poca diferenciación entre las frecuencias alélicas de las subpoblaciones puede ser atribuida al tamaño de la muestra que no fué lo suficientemente grande como para detectar las discrepancias genéticas entre ambas entidades, aunado a la dificultad para detectar diferencias entre las frecuencias genotípicas observadas y esperadas cuando existe una proporción grande de heterocigotos como la obtenida aquí (Smith, 1970) causada tal vez por una ventaja selectiva de los mismos.

Según Chekroborty y Leimar (1987) cuando un alelo es muy raro o cuando el tamaño de la muestra es muy pequeño, la distribución de las frecuencias de las muestras dadas por la hipótesis nula en la χ^2 cuadrada, no se aproximan a dicha distribución. Por el contrario, dicho autor señala que por muy grande que sea la muestra, si existe una moderada heterogeneidad (poca divergencia) de las frecuencias entre las muestras, causada por la mezcla o solapamiento de las subpoblaciones, normalmente no serán detectadas las diferencias en las frecuencias o pueden ser desviadas por factores como la selección natural (Allendorf y Phelps 1981).

En relación a las frecuencias genotípicas observadas (tablas 5.3a y b) éstas mostraron un exceso de heterocigotos resultando en índices de heterocigocidades altos en cada

tejido analizado ($h=0.49$ a 0.51) en relación a otros estudios realizados en ese mismo sentido (Kohen et al 1971, Shaklee et al 1983), de tal forma que produjo una desviación importante en las frecuencias observadas respecto a las esperadas.

El exceso de heterocigosis puede ser resultado de la fertilidad diferencial entre los individuos de la población, como lo ha demostrado Purser (1966), causado por la selección de la viabilidad de los cigotos lo que conduce a una desviación de las frecuencias en relación al equilibrio de Hardy-Weinberg en una dirección opuesta a la endogamia.

Hedgecock et al (1989), obtuvieron similares resultados en sus estudios sobre la subpoblación central de la anchoveta, reportando desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinber para el locus de las enzimas Hbdh-2 (hidroxibutirato deshidrogenasa) y la Lgg (tripeptidasa) causadas igualmente por un exceso de heterocigotos aunado a una interdependencia de las frecuencias alélicas en relación al sexo.

Otras de las causas que originan un exceso de heterocigotos en las poblaciones de peces pueden ser las diferencias en las frecuencias alélicas entre las clases de edad y entre el sexo (Hedgecock et al 1989, Utter 1986), ya que las frecuencias tienden a ser estables entre clases anuales, variando en relación a las clases de edad de la población.

Sería recomendable cuantificar las frecuencias alélicas entre las diferentes clases de edad y el sexo de la

anchoveta y comprobar la existencia de la interdependencia entre las frecuencias y dichas variables.

Es evidente así que existen diferencias poco apreciables en cuanto a la morfología y biología de las subpoblaciones reportadas de la anchoveta, tal vez originadas más por diferencias en las condiciones ambientales que determinadas por características genéticas o tal vez, la homogeneidad en la distribución de las frecuencias alélicas, a esto aunado el exceso de heterocigotos, sugieren a la migración como un importante factor que contribuye al intercambio de genes entre dichas subpoblaciones como el resultado del solapamiento de estas entidades, lo que no ha permitido que la diferenciación entre ambas sea significativa dificultando la identificación de éstas.

Allendorf y Phelps (1981) han señalado que en subpoblaciones grandes, como es el caso de las anchovetas, el proceso de divergencia causado por la deriva génica es contrarrestado con sólo un número reducido de migrantes no obstante el tiempo en que haya operado la deriva. En contraste, en poblaciones pequeñas ocurre lo contrario.

Por otro lado podría pensarse asimismo, que estas subpoblaciones hayan constituido inicialmente una población única sin subdivisiones, y que al decrecer la población de sardina se expandieron de forma tal que el flujo de genes se haya visto mermado por factores de tipo geográfico y por la presión de pesca, la cual pudo haber tenido una gran

influencia al interrumpir dicho flujo, creando espacios o manchones en la distribución de la población. Es posible, por tanto, que estas entidades se encuentren en un proceso reciente de divergencia mostrado por las diferencias apenas apreciables en las frecuencias de los alelos obtenidas en este trabajo.

En relación a los resultados obtenidos en las hemoglobinas no pudo ser detectado polimorfismo alguno de estas proteínas lo que fué confirmado por la presencia consistente de los tres electromorfos resueltos (con una frecuencia de aparición del 100%).

En relación a la presencia de bandas ténues y delgadas asociadas a cada electromorfo detectado, Sick (1961), obtuvo similares resultados en las hemoglobinas del bacalao detectando lo que llamó componentes menores asociados a tales proteínas atribuyéndolas a la desnaturalización de éstas debido al almacenaje. Observando un incremento en dichos componentes menores al alargamiento del tiempo de preservación de las muestras.

Por otro lado Tsuyuki et al (1965), señalan que en algunos peces muy evolucionados como los salmónidos, se presentan patrones de hemoglobinas tan complejos como en los mamíferos en los que se han reportado estructuras tetraméricas en éstas proteínas, mientras que en peces primitivos dichos patrones son muy simples, en ocasiones constituidos de polipéptidos sencillos como podría ser el caso de la anchoveta. Similares resultados fueron obtenidos

por Chandrasekhar (1959) en las hemoglobinas de algunos Ciprínidos.

Sin embargo las transferrinas mostraron polimorfismo marcado, aunque ambas subpoblaciones mostraron cierto grado de divergencia en la distribución de las frecuencias alélicas, además de encontrarse en equilibrio de Hardy-Weinberg, no representan un criterio sólido para establecer diferencias entre estas unidades poblacionales, aunado a esto el valor del índice de fijación de Wright (1965), el cual presentó valor negativo ($F_{st} = -0.547$), significando poca o nula divergencia. Es posible que el alto valor registrado del alelo TFA en la subpoblación sureña sea resultado de la fijación del mismo por deriva génica y que quizá represente algún valor adaptativo que este siendo mantenido por la selección natural.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo no corresponden con lo obtenido por Vrooman et al (1981) quienes obtuvieron un sistema de cuatro alelos codominantes autosómicos para las transferrinas de las subpoblaciones norteña, central y sureña de *Engraulis mordax* en geles de almidón, obteniendo poca diferenciación en la distribución de las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones. Aunque dichos alelos igualmente presentaron estructura monomérica, quizá debido a el número significativamente mayor de colectas y tamaño de muestras realizadas por estos autores, o a las diferentes técnicas de electroforesis utilizadas así como de la extracción y detección de las transferrinas, no

permitió la obtención de patrones similares a los reportados, y a causa del número reducido de colectas en este estudio, es posible que solo se hallan muestreado los alelos detectados aquí y que difieren al número de los obtenidos por dichos autores.

Las transferrinas juegan un papel importante en los seres vivos, especialmente en los peces debido a que son proteínas cuya función de transporte de fierro en la síntesis de hemoglobinas puede representar un mecanismo adaptativo relevante y la detección del polimorfismo presente en dichas moléculas resulta de gran interés si el objetivo es establecer diferencias entre subpoblaciones.

Es difícil predecir la influencia que tienen los factores como la selección, migración y deriva génica en la distribución de las frecuencias alélicas, pues difícilmente se pueden hacer inferencias contando con la escasa información provista por solo dos loci polimórficos resultantes de los sistemas analizados aquí, del conjunto de genes que integran a la población pues resulta poco significativo por lo que sería recomendable ampliar la muestra en el número de loci o genes existentes en la población, aunque no debemos olvidar que el propósito del presente trabajo fué la búsqueda de marcadores genéticos como base para identificar las subpoblaciones central y sureña de la anchoveta y que alguna información adicional como el índice de diversidad genética, heterocigocidad promedio y distancia genética a través de los índices de Nei

(1972) y Wright (1965), podrían servir para hacer estimaciones con mayores elementos de discusión y tratar de determinar la cantidad de flujo genético actuando junto con tales fuerzas evolutivas en la divergencia y aislamiento de estas unidades geográficas.

Por lo pronto, la única evidencia que tenemos al tratar de establecer una posible estructura genética de la población de anchoveta es la presencia significativa de un importante flujo genético entre las subpoblaciones central y sureña, mantenido posiblemente por los movimientos estacionales en masa, que realizan estos organismos durante su época de desove y modificando las frecuencias de los alelos en relación a las expectativas de Hardy-Weinberg.

Por otra parte parece ser que la selección actúa en el sentido del mantenimiento de organismos heterocigotos, contribuyendo a la desviación de las frecuencias según las expectativas de Hardy-Weinberg (Chakraborty y Leimar 1987), lo que conlleva a una mayor capacidad de respuesta hacia la heterogeneidad en las condiciones oceanográficas características de la corriente de California.

Es importante que en algún estudio posterior, se trataran de llevar a cabo los muestreos en diferentes localidades dentro de una misma subpoblación de tal forma de determinar las frecuencias de los alelos en relación a las diferentes zonas de colecta para corroborar la homogeneidad existente en éstas además de aumentar el número de loci a ser estudiados y finalmente tratar de realizar muestreos de

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

la subpoblación norteña y así observar el comportamiento de los alelos y poder apoyar las conclusiones a que se han llegado en este estudio.

VIII.- CONCLUSIONES.

- La distribución de las frecuencias alélicas en las esterases de los diferentes tejidos analizados muestran diferenciación entre las muestras de la subpoblación central y sureña.

- Existe relativamente poca diferenciación entre las subpoblaciones estudiadas debido al significativo flujo de genes entre ambas unidades evidenciado por el bajo valor del índice de Wright ($F_{st} = 0.0018$) y el índice de panmixia, causado por el solapamiento como consecuencia de los movimientos migratorios de estas entidades.

- El índice de heterocigocidad presenta un valor alto traducido en un exceso de heterocigotos que posiblemente sean mantenidos por procesos selectivos.

- Las hemoglobinas no resultaron ser un criterio apropiado para identificar las subpoblaciones a partir de marcadores genéticos puesto que no presentaron polimorfismo alguno.

- Las transferrinas a pesar de que presentaron una distribución heterogénea en sus frecuencias alélicas no representan un criterio útil en la identificación de las subpoblaciones puesto que se detectó una posible influencia de factores de tipo evolutivo como la deriva génica, determinando la distribución de los alelos.

- Sin embargo, es recomendable considerar a las subpoblaciones de la anchoveta *Engraulis mordax* como unidades poblacionales independientes con fines de su explotación, de acuerdo con los criterios propuestos por Gulland (1971) y de esta forma contribuir a la preservación de los recursos genéticos de estos organismos.

VII.- REFERENCIAS.

- Allendorf, F.W. y F.M. Utter. 1973. Gene duplication within the family salmonidae: Disomic inheritance of two loci reported to be tetrasomic in rainbow trout. Genetics. 74: 647-654.
- Allendorf, F.W. y F.M. Utter,. 1979. Population Genetics. In: Fish Physiology, vol. 8, ed W.S. Hoar, D.J. Randall, and J.R. Brett (Academic Press, New York), pp. 417-454.
- Allendorf, F.W. y S.R. Phelps. 1981. Use of allelic frequencies to describe population structure. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38:1507-1514.
- Allendorf, F.W., N. Ryman y F.M. Utter. 1987. Genetics and Fishery Management.. In: N. Ryman and F. Utter (editors). Population Genetics and Fishery Management. p 1-19. Wash. Sea Grant Program. Univ. Wash. Press, Seattle.
- Alkutov, Yu.P. 1981. The stock concept from the viewpoint of population genetics. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38: 1523-1538.
- Alkutov, Yu y A.E. Salmenkova. 1987. Stock transfer relative to natural organization, management and conservation of Fish Populations. :In N. Ryman, and F. Utter (ed). Population Genetics and Fishery Management. p 333-342 Wash. Sea Grant Program. Univ. Wash Press, Seattle.
- Awise, C.J. 1975. Systematic value of electrophoretic data. Syst. Zool. 23: 465-481.
- Baxter, I.J. 1967. Summary of biological information on the northern anchovy *Engraulis mordax* Girard. CalCOFI Rept., 11: 110-116.
- Baumer, H. 1974. Nuevos productos alimenticios de anchoveta. Prog. Invest. y Fom. Pesq. Mex./PNUD/FAO. Contribuciones al estudio de las pesquerías de México. CEPM 7: 63-71.
- Cannings, C. y A.W.F. Edwards. 1969. Expected genotypic frequencies in a small sample: Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. Am. J. Hum. Genetics. (21)3: 245-247.

- Chakraborty, R. y O. Leimar. 1987. Genetic variation within a subdivided population. In: N. Ryman and F. Utter. (editors). Population Genetics and Fishery Management. p 89-119. Wash. Sea Grant Program. Univ. Wash. Press, Seattle.
- Chandrasekhar, N. 1959. Multiple haemoglobins in fish. *Nature*. 184(4699): 1652-1653.
- Chiappa, C.F.X. 1988. Consideraciones bioecológicas sobre la alimentación, crecimiento, hábitos alimenticios y contenido calórico de la dieta de las poblaciones de anchoveta *Engraulis mordax* Girard, localizadas en las costas occidentales de Baja California. Tesis Maestría Inst. Cienc. Mar y Limnol. UNAM. 131pp.
- Clark, N.F. and B.J. Phillips, . 1952. The northern anchovy (*Engraulis mordax*) in the California Fishery. *Calif. Fish and Game*. 38(2): 189-207.
- Crisci, J.V. y M.F. López-Armengol. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Secretaría General de la OEA. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico, Wash. D.C. 132p.
- Cushing, D.H. 1975. Ecología Marina y Pesquerías. Ed Acribia España. 225pp.
- Dawson, M.D. and S. Jaeger, . 1970. Heterogeneity of Phosphoglucomutase. *Bioch. Genet.* 4:1-9.
- Dempson, J.B., E. Vespoor y J. Hammar, . 1988. Intrapopulation variation of the Esterase-2 polymorphism in the serum of anadromous Artic Charr, *Salvelinus alpinus*, from a northern Labrador river. *Can. J. Aquat. Sci.* 45: 463-468.
- Díaz, J.P. 1987. Estudio electroforético de las esterases en las poblaciones de Tilapia sujetas a explotación en el estado de Morelos. Tesis Profesional. Fac. Ciencias UNAM. 53p.
- Dotson, C.R. y E.J. Graves, . 1982. Biochemical identification of a bluefin tuna establishes a new California - size record. *Calif. Fish and Game*. 24: 63-64.
- Elston, R.C. y R. Forthofer, . 1977. Testing for Hardy-Weinberg equilibrium in small samples. *Biometrics*. 33 (3): 536-542.
- Escudero, M. 1984. Estudio de la pesquería de la anchoveta (*Engraulis mordax*), en aguas mexicanas. Tesis Maes-

tría. Inst. Cien. Mar y Limnol. UNAM.

- FAO/UNEP, 1981. Conservación de los recursos genéticos de los peces. Problemas y recomendaciones. Informe de la consulta a expertos sobre recursos genéticos de los peces. Roma, 8 a 13 de junio de 1980. FAO fish tech. paper 217.
- Ferguson, A. 1974. The genetic relationships of the coregonid fishes of Britain and Ireland indicated by electrophoresis analysis of tissue proteins. *J. Fish Biol.* 6: 311-315.
- Ferguson, A. 1980. Biochemical Systematics and Evolution. Ed Blackie andson, Ltd Glasgow and London: 22-62
- Fehrström, H. y U. Moberg, . 1977. SDS and conventional polyacrilamide gel electrophoresis with LKB 2117 multiphor. Application note 306. LKB produkter, Bromma, Sweden.
- Fiedler, P.C., R.D. Methot, y P.R. Hewit, . 1986. Effects of California El Niño 1982-1984 on the northern anchovy. *J. Mar. Research.* 44: 317-338.
- Gall, G.A.E. 1986. Application of electrophoresis to rainbow trout. In: D. Hedgecock (ed.), Workshop on Identifying Fish Subpopulations. p18-20. Calif. Sea Grant Coll. Program publ. T-CSGCP-013.
- Gall, G.A.E. 1987. Inbreeding. In: N. Ryman and F. Utter (ed) Population Genetics and Fishery Management, p 47-80. Wash. Sea Grant Program. Univ. Wash. Press, Seattle.
- Gallardo, C.M. 1985a. Determinación de la edad de la anchoveta *Engraulis mordax* Girard en aguas de Baja California Norte (Pisces: Engraulidae). *Ann. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM* 12(1): 221-234.
- Gallardo, C.M. 1985b. Análisis del crecimiento de la anchoveta *Engraulis mordax* Girard en aguas de Baja California Norte (Pisces: Engraulidae) *Ann. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.* 12(1): 235-252.
- Grant, W.S. 1985. Biochemical genetic stock structure of the Southern African anchovy, *Engraulis capensis* Gilchrist *J. Fish Biol.* 27:23-29.
- Greenwood, P.H., D.E. Rosen, S.H. Weitzman, y G.S. Myers. 1966. Phyletic studies of teleostean fishes, with a provvissional classification on living forms. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 131 (4): 341-355.
- Gulland, J.A. 1971. Manual de Métodos para la Evaluación de

las Poblaciones de Peces. FAO/UNEP. Roma, Italia. 163p

- Hassan-Al, L.A. 1988. Genetic variation and populations structure in *Thryssa hamiltoni* and *Nematalosa nasus* in Iraqui waters. (Brief Com.) *J. Fish Biol.* 33 (supplement A): 219-220.
- Hedgecock, D., R.A. Shleser, y K. Nelson. 1976. Applications of biochemical genetics to aquaculture. *J. Fish. Res. Board Can.* 33: 1108-1119.
- Hedgecock, D. 1986. Recognizing subpopulations in California's mixed pelagic fish stocks. In: D. Hedgecock (ed) Workshop on Identifying Fish Subpopulations, p 26-32. Calif. Sea Grant Coll. Program publ. T-CSGCP-013.
- Hedgecock, D., S. Hutchinson, G. Li, F.L. Sly, y K. Nelson. 1989. Genetic and morphometric variation in the pacific sardine, *Sardinops sagax caerulea*: Comparisons and contrasts with historical data and with variability in the northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.* 87: 653-671.
- Hubbs, C.L. 1925. Racial and seasonal variation in the Pacific herring, California sardine and California anchovy. *Calif. Fish Game Comm. Fish. Bull.* 8: 23p
- Hunter, R.J. y J.B. Macewicz. 1980. Sexual maturity, batch fecundity, spawning frequency, and temporal pattern of spawning for the northern anchovy *Engraulis mordax* during the 1979 spawning season. *Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rept.* 21: 139-149.
- Jorstad, K.E. y G. Nævdal. 1989. Genetic variation and population structure of cod, *Gadus morhua* L., in some fjords in northern Norway. *J. Fish Biol.* 35: 245-252.
- Kalinina, O.V., y V.V. Kalinin. 1984. Genetic differentiation and reproductive relationships between the Black sea race and Azov sea race of european anchovy. *Rept. 2 Genetika.* 20(2): 309-313.
- Kalinin, V.V. y O.V. Kalinina. 1985. Genetic differentiation and reproductive relationships in the azov and Black sea races of anchovy. *Rept. 3. Genetika.* 21 (8): 1352-1360.
- Kirpichnikov, V.S. 1981. Genetic Basis of Fish Selection, translated by G.G. Gause (Springer Verlag, Berlin, heidelberg, New York), 410pp.

- Kirpichnikov, V.S. 1983a. Biochemical polymorphism and microevolution processes in fish. In: Genetics and Mutagenesis in Fish. Springer Berlin Heidelberg. New York. pp 223-241.
- Kohen, K.R. 1969. Esterase heterogeneity: Dynamics of a polymorphism. Science. 163: 943-944.
- McCall, A.D. 1980. Population models for the northern anchovy *Engraulis mordax*. Rapp. P.V. Reun. Cons. Explor. Mer., 177: 292-306.
- McCall, A.D. 1986. Review of the biological rationale for identifying subpopulations in fisheries. In. D. Hedgecock (ed). Workshop on Identifying Fish Subpopulations p 9-13: Calif. Sea Grant Coll. Prog. Publ. T-CSGCP-013
- McHugh, J.L. 1951. Meristic variations and populations of the northern anchovy (*Engraulis mordax*). Bull. Scripps Inst. Oceanogr. 6: 123-160.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. Am. Nat. 106: 283-292.
- Nei, M. y A.K. Roychoudhury. 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. Genetics. 59: 379-390.
- Ohno, S., U. Wolf, y B.N. Atkin. 1968. Evolution from fish to mammals by gene duplication. Hereditas 59: 169-187.
- Ohno, S. 1970. The enormous diversity in genome sizes of fish as a reflection of nature's extensive experiments with gene duplication. Trans. Am. Fish Soc. 99(1): 120-130.
- Okamoto, H. 1989. A genetic comparison of sympatric populations of Sand Lance (Genus *Ammodytes*) from the region east of Cape Soya, Japan. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 46: 1945-1951.
- Parrish, H.R., L.D. Mallicoate, y A.R. Klingheid. 1986 Age dependent fecundity, number of spawnings per year and maturation stages in northern anchovy *Engraulis mordax* Fish. Bull. 84(3): 503-517.
- Pella, J.J. y B.G. Milner. 1987. Use of genetic marks in stock composition analysis. In: N. Ryman and F. Utter (editors). Population Genetics and Fishery Management. p247-275. Wash. Sea Grant Program. Univ. Wash Press.

- Polanco, J.E., S.R. Mimbela, M.L. Beléndez, O.P. Gonzalez, M.A. Flores, U.A. Pérez, L.N. Aguilar, E.R. Pérez, A.R. Calderón, R.J.L. Guerra, A.J. Romo, A.H. Gómez, S.J.J. Mimbela, M.H. Cabrera, M.D. Peralta, J. García y G. J. Ochoa. 1987. Esquema de regulación propuesto para la administración de la pesquería de la anchoveta del noroeste. En: Pesquerías Mexicanas: Estrategias para su Administración. Secretaría de Pesca. México. pp 309-375.
- Power, H.J. 1986. A model of the drift of northern anchovy *Engraulis modax* larvae in the California current. *Fish. Bull.* 84(3): 585-602.
- Purser, A.F. 1966. Increase in heterozygote frequency with differential fertility. *Heredity*. 21: 322-327.
- Ryman, N. y F.W. Allendorf. 1987. Genetic Management of Hatchery Stocks. In: N. Ryman and F. Utter (Editors) Population Genetics and Fishery Management. p 141-153 Wash. Sea Grant Program. Univ. Wash. Press, Seattle.
- Seeb, W.L. y R. D. Gunderson. 1988. Genetic variation and population structure of pacific ocean perch (*Sebastes aulutus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45:78-88.
- Shaklee, B.J., W.R. Brill y R. Acerra. 1983. Biochemical - genetics of Pacific blue marlin *Makaira nigricans* from hawaiian waters. *Fish. Bull.* 81(1): 85-90.
- Sharp, D.G. 1973. An electrophoretic study of hemoglobins of some scombroid fishes and related forms. *Comp. Biochem. Physiol.* 44b:381-388.
- Shaw, C.R. 1965. Electrophoretic variation in enzymes. *Science*. 49: 936-943.
- Shaw, C.R., y R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.* 4: 297-320.
- Sick, k. 1961. Haemoglobin polymorphism in fishes. *Nature* 192: 894-896.
- Smith, C.A.B. 1970. A note on testing the Hardy-Weinberg law. *Ann. Hum. Genet.* 33: 377-383.
- Smith, P.J., A.J. Birley, y A. Jamieson. 1989. Electrophoretic studies and the stock concept in marine fishes. *J. Fish. Biol.* 35(suppl. A): 345-346.
- Sokal, R.R. 1961. Distance as a measure of taxonomic similarity. *Syst. Zool.*, 10(70): 40-51.

- Tapia, V.O., A.E. Coteró y C. García. 1988. Determinación de madurez gonadal y fecundidad en anchoveta (*Engraulis mordax*) de la subpoblación central. *Ciencia Pesquera* 6: 69-101.
- Tsuyuki, H. y F. Wolf. 1964. Enolase: Multiple molecular forms in fish muscle. *Science* 146: 535-537.
- Tsuyuki, H., E. Roberts y E.W. Valstone. 1965. Comparative zone electropherograms of muscle myogens and blood hemoglobins of marine and freshwater vertebrates and their application to biochemical systematics. *J. Fish. Res. Board Can.* 22: 203-213.
- Utter, F.M., O.H. Hodgins y W.F. Allendorf. 1974. Biochemical genetic studies of fishes: Potentialities and limitations. In: D.C. Malins and J.R. Sargent (ed) Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology. p213-231, vol. 1. Academic Press, New York.
- Utter, F.M. 1986. Validity of electrophoresis in identifying fish populations structures. In: D. Hedgecock (editor) Workshop on Identifying Fish Subpopulations. p 14-19. Calif. Sea Grant Coll. Program Publ. T-CSGCD-013.
- Utter, F.M., Abersold, P and Winans G. 1987. Interpreting genetic variation detected by electrophoresis. In: N. Ryman and F. Utter (editors). Population Genetics and Fishery Management. p21-44. Wash. Sea Grant Program Univ. Wash. Press. Seattle.
- Vera-Muñoz, G. 1985. Caracterización electroforética de los peces *Sarotherodon mossambicus* y *S. hornorum* (Pisces Cichlidae). Tesis Maestría. Fac. Ciencias UNAM. 56p.
- Vrooman, A. y P. Smith. 1971. Biomass of the subpopulation of northern anchovy, *Engraulis mordax* Gixard. *Cal. Coop Ocean. Fish. Invest. Rept.* 15: 49-51.
- Vrooman, A.M., A.P. Paloma y R.J. Zweifel. 1981. Electrophoretic, morphometric and meristic studies of subpopulations of northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Calif. Fish and Game.* 67(1): 39-51.
- Wadsworth, P.T. 1974a. Desarrollo de la pesquería de la anchoveta: potencial y estrategia. Prog. Invest. y Fom. Pesq. Mex./PNUD/FAO. Contribuciones al estudio de las pesquerías de México. CEPM 7: 27-63.
- Wadsworth, P.T. 1974b. Anchoveta para consumo humano. Prog. Invest. y Fom. Pesq. Mex./PNUD/FAO. Contribuciones al estudio de las pesquerías de México. CEPM 7: 71-75.

Whitehead, P.J.P., G.J. Nelson y T. Wongratana. 1988. FAO Species Catalogue. Vol. 7. Clupeoid fishes of the world (Suborder Clupeoidei). An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolf-herrings. Part 2. Engraulididae. FAO Fish. Synop., (125) Vol. 7, Pt. 2: 305-579.

Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by *F*-Statistics with especial regard to systems of mating. Evolution, 19: 395-420.