

9



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO MORFOLOGICO
GENETICO-BIOQUIMICO DE DOS POBLACIONES
DEL CAMARON BLANCO *Penaeus Setiferus (Limnaeus)*
DEL GOLFO DE MEXICO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G A
P R E S E N T A
ARENA ORTIZ LETICIA



MEXICO, D. F.



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE

Jefe de la División de Estudios Profesionales

Facultad de Ciencias

Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron la pasante(s) ARENA ORTIZ MARIA LETICIA

con número de cuenta 8720556-3 con el Título: ESTUDIO MORFOLOGICO GENETICO-BIOQUIMICO DE DOS POBLACIONES

DEL CAMARON BLANCO Penaeus setiferus (Linnaeus) DEL GOLFO

DE MEXICO

Otorgamos nuestro Voto Aprobatorio y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de BIOLOGA

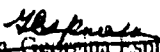
GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
Dr.	Carlos	Rosas Vazquez	
Director de Tesis	Dra.	Georgina Espinosa López	
Dr.	Luis Arturo	Soto Gonzalez	
Dr.	Alfonso Miguel	Torre Blanco	
Suplente	M. en C.	Juan Carlos Gavtan Oyarzún	
Suplente			

M.C. Virginia Abrin Batule
JDivisión Estudios Profesionales
Fac. de Ciencias
UNAM

Estimada M.C. Abrin:

La presente es para comunicarle que doy mi voto aprobatorio para que Maria Leticia Arena Ortiz de la Carrera de Biología, No. de cuenta 8720556-3, presente su examen profesional para obtener el título de Bióloga.

Atentamente


Dra. ~~Georgina~~ Espinosa López
Profesora Auxiliar Dpto de Bioquímica
Fac. de Biología
Universidad de La Habana, CUBA

Este trabajo fue realizado en la Facultad de Ciencias de la UNAM y en la Facultad de Biología de la Universidad de la Habana, en Cuba, con financiamiento de la UNAM a través de la DGAPA (proyecto de Investigación IN 201292), bajo la dirección del Dr. Carlos Rosas Vázquez de la Facultad de Ciencias de la UNAM y de la Dra. Georgina Espinosa López de la Universidad de la Habana.

A MIS PADRES

**MANUEL ARENA OCHOA
LETICIA E. ORTIZ DE ARENA**

Y HERMANOS

GUADALUPE Y MANUEL

Marco Polo describe un puente, piedra por piedra
- *¿Pero cuál es la piedra que sostiene el puente?* -
pregunta Kublai Jan
- *El puente no está sostenido por esta piedra o por
aquella- responde Marco-, sino por la línea del arco
que ellas forman.*

Kublai permanece silencioso, reflexionando.

Después añade:

- *¿Porqué me hablas de las piedras? Lo único que
me importa es el arco.*

Polo responde:- *Sin piedras no hay arco*

Italo Calvino

Agradecimientos

Agradezco el gran apoyo y confianza del Dr. Carlos Rosas, por esta gran oportunidad, por su ejemplo académico, y personal.

A la Dra. Georgina Espinosa por brindarme la oportunidad de trabajar a su lado y compartir sus conocimientos, por su gran disponibilidad y asesoramiento.

Al Biol. Rogelio Díaz, por su gran dedicación, por su instrucción y alianza.

A los Doctores Luis Soto, Alfonso Torre Blanco y al M. en C. Juan Carlos Gaytan por su revisión y valiosos comentarios a este trabajo.

Al M. en C. Francisco Vera y a la M. en C. Cecilia Vanegas, por permitirnos trabajar en la Estación de Ciudad del Carmen Campeche, para hacer el muestreo.

A mis padres y hermanos por su gran amor, respaldo y creencia.

A mis amigos y compañeros Pedro, Tomás, y Gabriel que hicieron del trabajo pesado una actividad fácil y agradable.

A los compañeros de la Universidad de la Habana, Mayelin, Damir, Joel, Omar, Niurka, y a los Doctores Marisabel y Eugenio Díaz por su colaboración y hospitalidad.

A Cesar por encaminarme en los desconocidos caminos computacionales y por su gran amistad, y a Samuel por solucionar los problemas técnicos siempre incondicionalmente.

A Jorge su paciencia, ayuda y presencia.

A las siete maravillas, por ser como lo indica el nombre, por su existencia y su cariño.

A mis abuelos por su ejemplo, y por su siempre ilimitada cooperación.

A los compañeros del laboratorio de Ecofisiología, por ceder siempre el paso y por su alegría.

A todos muchas Gracias.

INDICE

I		
Resumen		1
II		
Introducción		2
III		
Antecedentes		4
IV		
Objetivo		11
V		
Material y Métodos		11
VI		
Resultados		17
VII		
Discusión		33
VIII		
Conclusiones		38
IX		
Apéndices		39
X		
Bibliografía		41

I RESUMEN

El conocimiento genético de una especie de interés comercial como el camarón blanco *Penaeus setiferus*, es una alternativa a tener en cuenta para su mejor manejo y explotación. En el presente trabajo se realizó un estudio genético de las poblaciones de camarón blanco *P. setiferus* procedente de la plataforma continental adyacente a la Laguna de Términos, Campeche y de la desembocadura del Río Tuxpan, Veracruz. El estudio abarcó aspectos tanto morfológicos como genéticos de las dos poblaciones. Se encontró que la longitud del segmento 5 es un buen estimador del peso de la cola sin exoesqueleto, medida de gran importancia comercial en ésta especie, el rendimiento alimenticio es mayor en Cd. del Carmen que en Tuxpan y la proporción de sexos es de 1:1 en ambas poblaciones. Las poblaciones se encuentran en un 79% en equilibrio genético, los casos de desequilibrio genético, se deben a un déficit de heterocigóticos, esto es explicable si se toma en cuenta que las especies estudiadas son explotadas fuertemente. Los patrones enzimáticos PGM, Est-3, Fosf-1 y Amilasa, diferencian las poblaciones de Tuxpan y Cd. del Carmen, esta última población presenta mayor variación morfológica y menor variabilidad genética, es por tanto la de menor homeostasis o eficacia fisiológica. Existe poca diferenciación entre las poblaciones de *P. setiferus* analizadas, correspondiendo la mayor parte, a la diferenciación dentro de las poblaciones.

II INTRODUCCION

El cultivo y producción de especies de interés comercial como el camarón es una alternativa a la explotación de las poblaciones naturales. Actualmente la acuicultura se practica en casi todos los países del mundo y se considera que ésta actividad contribuye con más del 20% de la producción total a nivel mundial (Martínez, R. 1993). La camaronicultura se está constituyendo como una floreciente industria, en total, la producción camaronícola es en la actualidad de más de 720000 toneladas anuales (Rosenbery, 1992. Citado por Martínez, R. 1993). Investigaciones recientes han demostrado que las pesquerías de camarón blanco han alcanzado el rendimiento máximo sostenible (Nance *et al*, 1989).

En México el cultivo del camarón es una actividad muy reciente la cual está recibiendo un gran impulso por parte de instituciones gubernamentales, sociedades cooperativas y grupos de investigación (Martínez, R. 1993).

En estudios recientes y por capturas experimentales en las plataformas continentales de nuestro país se ha determinado la presencia de 11 géneros con 28 especies de camarones pertenecientes a la superfamilia *Penaeoidea* (Hendricks, 1986; Poli y Calderón, 1987; Sánchez y Soto, 1987, Citados por Martínez, R. 1993).

Las especies de interés comercial actual pertenecen al género *Penaeus*. En el Golfo de México las especies explotadas son *Penaeus aztecus*, *P. duorarum*, *P. setiferus* y *P. notialis* (Martínez, R. 1993).

El camarón blanco *Penaeus setiferus* es una especie que se distribuye desde la costa Atlántica Norte de los Estados Unidos hasta el Noreste de la Península de Yucatán. Esta especie figura entre las tres más importantes desde el punto de vista comercial en el Golfo de México (Brown *et al*, y 1979 Pérez). Su captura se

realiza desde la Bahía de Apalachicola Florida (E.U.A.) hasta la desembocadura del Río Tuxpan, Veracruz, y de Tupilco, Tabasco a Champotón, Campeche. Campeche ha sido considerada como la principal zona de captura de esta especie en México (Brown *et al.*, 1979, y Lawrence *et al.*, 1980). Sus hábitos son costeros se le pesca entre 2 y 90 m de profundidad. En el estado de adulto es típicamente marino. Durante su etapa postlarval y juvenil se le encuentra en aguas estuarinas, prefiere los fondos arenosos y fangosos.

En relación con su cultivo *P. setiferus* ha sido señalada como una especie adecuada para el desarrollo de la camaronicultura del Golfo de México. (Brown *et al.*, 1979, y Lawrence *et al.*, 1980)

Estudios recientes han demostrado que, en cultivo intensivo, *P. setiferus* puede reportar rendimientos tan altos como (7994.5 kg/ha/cosecha) los obtenidos con *P. vannamei* (7,187 kg/ha/cosecha). Siendo entonces una opción adecuada para desarrollar la camaronicultura del Golfo de México (Food and Drug Administration, 1992).

La acuicultura, como ciencia multidisciplinaria requiere de la participación de diversas ramas de la biología. Entre éstas, la genética ha adquirido especial importancia, ya que a través de ésta, es posible mejorar a las especies cultivables. Los estudios genéticos aportan conocimientos que permiten comprender la constitución y el acervo genético de las poblaciones tanto cultivadas como del medio natural. (Garay, L. 1988) Una manera de obtener este conocimiento es a través de la evaluación de la variación electroforética de las proteínas y de su relación con las características morfológicas de la población cultivada (Berovides y Alfonso, 1987)

La electroforesis, considerada como un método de separación de proteínas constituye una de las técnicas moleculares más usadas desde la década del 70. Entre las características que la han hecho tan popular se encuentra la simpleza del método, lo económico que resulta y además que se emplean extractos crudos de proteínas que no requieren purificación.

III ANTECEDENTES

Moore (1986) definió a la técnica analítica de la electroforesis como la migración de una molécula o partícula en un medio líquido bajo la influencia de un campo eléctrico aplicado. Al aplicar una corriente continua a las proteínas éstas tienden a separarse en dependencia de la carga. A mayor corriente, la velocidad de migración será mayor en dirección del polo que posea la carga opuesta. La movilidad de una proteína está determinada por la carga neta de los aminoácidos de sus superficie y por la conformación de la molécula.

Otro aspecto que influye en la separación proteica es el medio de soporte que se utilice en la corrida electroforética. Entre éstos se encuentra el papel, el acetato de celulosa, los geles de almidón ó de agarosa y los geles de poliacrilamida.

Raimond y Weinhaub en 1959 describieron por primera vez el gel de poliacrilamida (Neremberg, 1968). El poder de resolución de este gel está determinado por el tamaño de los poros formados por la matriz del gel. Davis (1964) encontró que un buen gel se obtenía con altas concentraciones de acrilamida y bajas de bisacrilamida.

Estos geles tienen ventajas como que su concentración se puede variar para tener un amplio margen de tamaños de poros. Sumergiéndolos en una solución de ácido acético tienen una excelente conservación que permite almacenarlos por tiempo prolongado, además son fáciles de manipular pues son poco frágiles. Después de sacar el gel del campo eléctrico se trata con una solución química que contiene un sustrato específico para la enzima de interés y una sal que reacciona con el producto de la reacción catalizada por la enzima. En el lugar del gel al cual ha migrado la enzima específica tiene lugar una reacción que puede ser descrita como:



La utilidad del método reside en que el genotipo del locus génico que codifica a la enzima puede ser inferido para cada individuo de la muestra a partir del número y las posiciones de las manchas observadas en los geles. Este método recibe el nombre de tinción específica (Ayala y Kiger, 1984)

Hunter y Marker (1975) (Citados por Ayala y Kiger, 1984) por primera vez aplicaron tinciones específicas después de la electroforesis para demostrar un sitio de actividad enzimática. A la posición de la enzima marcada por una banda o zona de colorante en el gel, le llamaron zimograma. Así pues el zimograma fué definido como la representación gráfica del producto de uno o más genes específicos.

Para hacer posible el análisis de las bandas se nombran de acuerdo a la velocidad de migración, aquella banda que esté más lejos de las hendiduras de la muestra, recibe el nombre de a, a la que le sigue en movilidad b y así sucesivamente.

Al observar un gel después de la electroforesis, si todos los individuos de una población presentan una sola banda, la hipótesis más simple es que un locus monomórfico codifica una proteína y todos ellos serán homocigóticos para un mismo alelo. Cuando entre los individuos existen diferencias, el patrón de bandas puede ser distinto. Cuando se observan bandas simples los individuos serán homocigóticos mientras que cuando en los fenotipos se observan dos o más bandas los individuos serán heterocigóticos. Entre los heterocigóticos, cuando se observan dos bandas para una enzima ésta será un monómero, tres bandas si esta compuesta por un dímero, cuatro si se trata de un trímero (caso que no se ha observado en crustáceos) y cinco si se trata de un tetrámero. (Shaw, 1964, Harris y Hopkins, 1976)

A pesar de su amplio uso, la electroforesis tiene algunas desventajas, como el hecho de que detecta solamente un bajo por ciento de las sustituciones alélicas debido a que sólo los genes estructurales codifican para proteínas y éstos solamente representan un porcentaje del genoma, que en el caso de los eucariontes es de menos del 10% (Berovides y Alfonso, 1987). Solamente son detectados aquellos cambios de aminoácidos que afectan la carga neta superficial de la proteína, y no todas las sustituciones alélicas producen cambios en la secuencia de aminoácidos. Sin embargo la información que es posible obtener con ésta técnica es muy valiosa.

En cuanto a la variación electroforética entre especies de camarones y otros crustáceos decápodos se ha observado que éstas son bajas cuando se les compara con animales terrestres y otros invertebrados marinos (Lester y Pante, 1992).

La variación genética de una población puede ser medida a través de la proporción de loci polimórficos, o los polimorfismos de proteínas. Estos datos permiten reconocer diferencias genéticas entre poblaciones tanto de especies de importancia comercial como de importancia ecológica. Otra medida de variación genética muy precisa es la frecuencia promedio de individuos heterocigóticos por locus o heterocigocidad de una población (Ayala y Kiger, 1984) Se han realizado observaciones empíricas que vinculan la heterocigocidad de las proteínas con viabilidad, velocidad de crecimiento, estabilidad del desarrollo y variables fisiológicas. (Mitton y Grant, 1984).

Según Lester (1979) los estudios genéticos de camarones del género *Penaeus* deben estar dirigidos a determinar la naturaleza genética de la especie y el número de poblaciones separadas dentro de cada especie. En su estudio observó que no existe variación geográfica en las frecuencias genéticas de loci polimórficos entre 26 loci que estudió en los camarones *P. aztecus*, *P. setiferus* y

P. duorarum y *Metapenaeus* del Golfo de México. Con este estudio se ha confirmado los bajos niveles de variación genética en términos de heterocigosidad, número de loci polimórficos y escasa diferenciación geográfica dentro de estas especies (Lester, 1983).

Por su parte Brussard y colaboradores (1981), han observado que las mismas especies tomadas en distintas localidades se pueden diferenciar unas de otras debido a su frecuencia fenotípica o por la presencia de variantes únicas. Estos autores han reportado diferencias genéticas entre especies de *Penaeus* de aguas Australianas, distantes geográficamente. (Muller y Latter, 1981). En este sentido en la actualidad los estudios con fragmentos de ADN mitocondrial en algunos casos refuerzan los resultados obtenidos con la electroforésis, y en otros muestran la existencia de altas diferencias genéticas entre especies similares morfológica y ecológicamente (Palumbi y Bran, 1991).

El uso de cálculos estadísticos permite expresar el nivel de diferenciación genética entre poblaciones geográficamente separadas. Nei (Citado por Ayala y Kiger, 1984) propuso un método útil para estimar la diferenciación genética entre poblaciones utilizando datos electroforéticos, empleando los parámetros de Identidad génica (I) que estima la proporción de genes que tienen una estructura en las dos poblaciones y la distancia genética (D) que estima el número de sustituciones alélicas por locus que han ocurrido en la evolución independiente de las poblaciones. El método tiene en cuenta el hecho de que no todas las sustituciones alélicas observadas son completas, un alelo puede haber sido reemplazado parcialmente por otro diferente, pero existiendo aún el alelo original en mayor o menor frecuencia. La identidad genética (I) puede variar desde cero, ningún alelo en común, a uno, los mismos alelos, y en las mismas frecuencias se encuentran ambas poblaciones. La distancia genética (D), puede variar desde cero (ningún cambio alélico) hasta infinito. D puede ser mayor que uno porque cada

locus puede experimentar más de una sustitución alélica completa cuando la evolución transcurre durante periodos largos de tiempo (Ayala y Kiger, 1984)

Otro índice que permite expresar el nivel de diferenciación genética entre poblaciones es el índice de diferenciación FST. Wright consideró el caso donde un "stock" fundador se dividió en un largo (teóricamente infinito) número de poblaciones y en un tiempo evolutivo (t generaciones) en las que después no existió migración entre ellas. Su índice puede medir distancia genética y estimar el tiempo de divergencia entre dos poblaciones (Wright, 1965).

Así mismo los estudios genéticos pueden ser usados para definir poblaciones de especies cultivables. Aunque los datos sobre la variación y diferenciación genética y morfológica generalmente no son considerados para escoger las especies para el cultivo, son algunos de los factores que determinan la tasa de crecimiento, la tolerancia al ambiente, la fecundidad y los requerimientos nutricionales de una especie (Lester y Pante, 1992).

A pesar del avance de la tecnología para la producción de camarones del género *Penaeus*, existen aún una gran dependencia de las poblaciones naturales de reproductores, los cuales son utilizados para la producción de larvas, postlarvas y juveniles. Para muchas especies, los reproductores del medio natural son la base de la producción de camarón a nivel industrial. Por esta razón, el estudio de la calidad genética de los reproductores ha adquirido especial importancia ya que, de sus características genéticas dependerán las características de los camarones cultivados en los estanques. (Lester y Pante, 1992). Así la selección de una población de reproductores "genéticamente adecuados" coadyuvará al éxito productivo.

Sin embargo, la producción industrial de camarón no debe quedarse en la dependencia de las poblaciones naturales ya que éstas no siempre están

disponibles en la cantidad ni con la frecuencia necesaria. Para resolver esto la tendencia en los últimos años ha sido desarrollar esquemas que incluyan la producción de bancos de reproductores en las propias granjas de cultivo. Estos bancos han sido creados a partir de larvas y postlarvas producidas en los laboratorios que las abastecen.

Al cerrar el ciclo de vida en cultivo se ha observado una disminución de la variabilidad genética en los bancos de progenitores respecto a las poblaciones naturales (Lester y Pante, 1992, Malecha, 1983, 1987, 1988, Sbordini et al. 1986, Sunden y Davis, 1991, Vazquez et al. 1988)

Cuando se cierra el ciclo de vida y las poblaciones se crían de manera aislada ocurren cambios genéticos como consecuencia de la adaptación de los organismos al ambiente de cultivo. Además se ha observado que al cerrar el ciclo de vida y reducir el tamaño de la población, el valor de la heterocigocidad disminuye en cada generación, esto se debe a que que aumenta el entrecruzamiento y con esto la homocigocidad (Sbordini, et al 1986).

Tomando en cuenta esto Lester y Pante (1992) han propuesto que, cuando se escoja una especie se determinen las características genéticas de la población fundadora y el número de animales iniciales, el tamaño de la población cultivada para satisfacer las necesidades comerciales y mantener la calidad genética, los parámetros comerciales considerados en los procesos de selección de la especie, tener cuidado en la elección de los reproductores en cada generación y la frecuencia de los apareamientos.

Para conocer la variedad entre especies, también se han realizado estudios morfológicos, generalmente centrados en caracteres como la estructura de genitales, apéndices, rostrum, características del caparazón, etc. Estos estudios han sido aplicados a la variación morfológica en especies de *Panaeus* con el

objetivo de determinar aquellos parámetros que tengan la mayor correlación con el peso del abdomen. Esto ha hecho que las características morfológicas de aplicación limitada (largo del rostrum, apéndices, etc.) hayan sido nuevamente valoradas (Lester y Pante, 1992).

Estos parámetros pueden ser usados en programas de selección en vez de utilizar el peso de la cola pues implica sacrificar al animal. A este respecto Lester (1983) realizó 9 mediciones de las dimensiones del cuerpo de *Penaeus stylirostris* y *P. vannamei* crecidos en estanques de cultivo y concluyó que la profundidad del segmento 6 del abdomen puede ser el mejor sustituto del peso del abdomen. Se buscó esta relación pues el abdomen tiene gran importancia comercial. Por otra parte Díaz *et al.* (en prensa) observaron que en el caso de *Penaeus vannamei*, *P. schmitti* y *P. stylirostris* el peso total es el caracter que más se relaciona con el peso de la cola.

Debido a que las diferencias en talla son difíciles de medir con precisión (alto error de medición) se han buscado métodos estadísticos que amortigüen los errores inherentes al método. Entre estos se ha recomendado como el más adecuado al análisis multivariado de las dimensiones del cuerpo del camarón, (Lester y Pante 1992).

Horton (1982) citado por Lester y Pante (1992) realizó los primeros estudios morfométricos multivariados en *P. stylirostris* y *P. vannamei* estableciendo niveles de variación entre sexo, clases de edad y entre diferentes localidades geográficas.

IV OBJETIVO

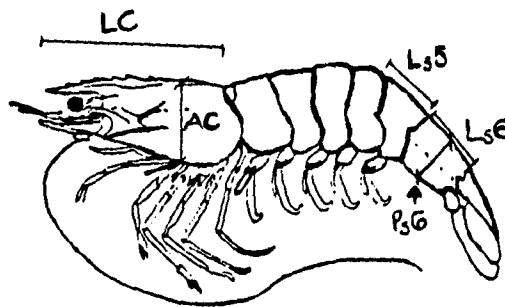
Considerando lo anterior se realizó el presente trabajo con el objetivo de comparar desde los puntos de vista morfológico y genético-bioquímico las poblaciones de *P. setiferus* de la plataforma continental adyacente al Río Tuxpan (población veracruzana) y la población de la plataforma continental adyacente a la laguna de Términos, Campeche (población campechana).

V MATERIAL Y METODOS

Origen del material biológico.

Para la realización de este trabajo se colectaron 185 organismos adultos, hembras y machos (aleatoriamente) identificados como *Penaeus setiferus*, 84 de la desembocadura del Río Tuxpan Veracruz y 101 de Cd. del Carmen, Campeche en los meses de enero y marzo de 1994, respectivamente. Los ejemplares fueron transportados en hielo seco (-80° C) al laboratorio, donde a cada animal se le tomaron algunas medidas morfométricas Fig. 1, en cm con una precisión de 0.05 mm

Figura 1. Parámetros morfométricos medidos en cm o en g



LC=Largo del cefalotórax, AC=Ancho del cefalotórax, Ls5=Largo del segmento 5 del abdomen, Ls6=Largo del segmento 6 del abdomen, Ps6=Profundidad del segmento 6, PT=Peso total, PCc=Peso de la cola (abdomen) con exoesqueleto, PCs=Peso de la cola sin exoesqueleto, LT=Largo total.

Así mismo se determinó el peso húmedo total (PT), el peso del abdomen con exoesqueleto (PCc), el peso del abdomen sin exoesqueleto (Pcs) ($\pm 0.1g$). En cada organismo se contó el número de dientes rostrales y se registró el sexo.

Después de tomados los datos morfológicos se conservó el cefalotórax y el primer segmento del abdomen sin exoesqueleto. Se mantuvieron en un congelado a $-70^{\circ}C$.

Elaboración de los extractos para la electroforésis.

En el caso de las muestras de músculo, se tomó un segmento de 0.5 gr, el cual se maceró con 500 μ l de buffer tris-ácido fosfórico 0.06-0.03 mol/l, pH=7, en proporción 1:1 (p:v).

La preparación de las muestras de hepatopáncreas se realizó extrayendo el hepatopáncreas y añadiendo dos gotas de agua destilada.

Ambos se maceraron en tubos de microcentrifuga de 1.5 ml y se centrifugaron aproximadamente a 13,000 xg durante 5 min. Al sobrenadante se le añadió solución de sacarosa al 60% con azul de Bromofenol (BPB) en proporción 1:2 (v:v). Esta solución proporcionó densidad y color a la muestra lo que facilitó su aplicación en la cámara electroforética e indicó la migración. Todos los reactivos y las muestras se trabajaron en frío.

Se utilizaron geles de poliacrilamida al 8% para Fosfatasa, 8.5% para Amilasas, 10% para Esterasas y 7.5% para Peroxidasas, GDH y Proteínas Totales, con dimensiones de 191x64x4mm. En el apéndice 1 se detalla la preparación de los geles. El método fue básicamente el mismo al descrito por Davis (1964), pero

empleando geles en placa de poliacrilamida. Se utilizó un equipo similar al de Trueller y Nefyodov (1974), el cual permitió el procesamiento de 42 muestras en cada corrida.

Las soluciones fueron conservadas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\pm 3^{\circ}\text{C}$ y antes de la polimerización fueron llevadas a temperatura ambiente. Para la preparación del gel separador se mezclaron 8 ml de Sol A con, 32 ml de PA, y las proporciones adecuadas de la solución C y agua destilada, para obtener las concentraciones deseadas (apéndice 2).

Los geles de almidón se prepararon utilizando almidón hidrolizado (Electran BDH). Los sistemas de tampones fueron los descritos por Ridwgy *et al* (1970) (apéndice 3).

Para desarrollar la electroforesis se utilizó un amortiguador tris-glicina, elaborado con 6 g de Tris, 28.8 g de glicina disueltos en 3 l de agua destilada ajustado a pH 8.3.

Después de agregar el amortiguador se aplicó un voltaje de 200 v hasta que el frente del bromofenol penetró en el gel separador. Posteriormente se elevó a 350 v hasta el final de la corrida, la cual se realizó a 10°C , la duración de la corrida fue variable y dependió de la proteína a estudiar.

En la electroforesis con almidón se aplicó una corriente de 40 mA y entre 150-200v y durante un período de 5-6 horas ó 20 mA y 80 v por 16-20 horas.

La concentración del gel, el tejido utilizado y la técnica de tinción variaron en dependencia del sistema enzimático en cuestión (Tabla 1).

El revelado enzimático se finalizó agregando al gel una solución de ácido acético 7.5% el cual detuvo la reacción por la desnaturalización proteica, con ésta se fijan las proteínas al gel permitiendo conservarlo por un tiempo prolongado.

Tabla 1. Características generales de las enzimas utilizadas en este estudio.

Enzima	Tipo y % del Tejido	Tampón de Tinción	Tinción	Cantidad		
MDH	Músculo Almidón 12	A pH=7	NAD ⁺	40 mg	Tampón A: Tris-HCl (0.02 mol/L)	
			Azúl de Nitrotetra- zolio 0.4%	3 ml		
			Metasulfato de Fenacina 0.4%	0.15 ml		
			Ac. Málico pH= 7	6 ml		
GDH	Músculo Acrilamida 7.5	C pH=7	NAD ⁺	60 mg	Tampón C: Fosfato (0.5 mol/L)	
			Azúl de Nitrotetra- zolio 0.4 %	3 ml		
			Metasulfato de Fenacina 0.4 %	0.15 ml		
			Tampón Fosfato	16 ml		
			Glutamato de Sodio	12 ml		
			Agua destilada	60 ml		
Peroxidasas	Hepato- páncreas	Acrilamida 7.5	Clorhidrato de Bencidina	2 g		
			Acido Acético glacial	14 ml		
			Peróxido de Hidro- geno 30 %	2 ml		
			Agua destilada	100 ml		
PGM	Músculo Almidón 12	A pH=8	NADP ⁺	12 mg		
			MTT 1%	0.225 ml		
			Metasulfato de Fenacina 1%	0.225 ml		
			Tampón	40 ml		
			Glucosa 1-P	8 mg		
			Glucosa 6-P des- hidrogenasa	60 µl		
Esterasas	Músculo Acrilamida 10	B pH=7	Acido Bórico	50 ml	Tampón B: Fosfato (0.2 mol/L)	
			α- naftil acetato	10 mg		
			β- naftil acetato	10 mg		
			Acetona	1 ml		
			Azúl rápido 0.2% en agua destilada	50 ml		
Fosfatasa	Hepato- páncreas	Acrilamida 8	A pH=8.5			
			α- naftil fosfato de sodio	50 mg		
			Azúl rápido	50 mg		
			Tris- HCl pH=5	100 ml		
Amilasas	Hepato- páncreas	Acrilamida 8.5	B pH=6			
			Solución de almidón y agar en Tampón fos- fato pH=6	100 ml		
			Reactivo de Lugol	50 ml		
Proteínas Totales	Hepato- páncreas	Acrilamida 7.5		0.1 % de Azúl de Coomasie en Acido Tricloroacético al 12.5 %	100 ml	

En todos los casos los geles fueron observados sobre una lámpara fluorescente y por transparencia se determinaron los electroforetogramas.

Análisis Estadísticos

Los resultados de los caracteres morfológicos fueron expresados como $\bar{x} \pm D.S.$ Se calculó además el coeficiente de variación por sexo para cada población y la relación funcional de éstos con el carácter Peso del abdomen (PCc) a través de la regresión múltiple paso a paso. Se calcularon además para cada población los índices de rendimiento alimenticio en abdomen con y sin exoesqueleto, mediante las siguientes fórmulas (Díaz *et al.*, en prensa).

•Índice de rendimiento alimenticio con exoesqueleto(RE)

$$RE = (PCc/Pt)100$$

Donde(PCc) es igual al peso del abdomen y (Pt) es el peso total.

•Índice de rendimiento alimenticio sin exoesqueleto(RA)

$$RA = (Pcs/Pt)100$$

Donde (Pcs) es igual al peso del abdomen sin exoesqueleto.

A los sistemas enzimáticos se les calculó las frecuencias fenotípicas y génicas, el equilibrio de Hardy-Weinberg, las frecuencias génicas para cada localidad. Intra localidad se determinó la frecuencia por clases de dientes rostrales y sexo y se compararon entre sí mediante tablas de contingencia que utilizan el estadístico G (Sigarroa, 1987). Para el caso de los sistemas de esterasas 1 y 2 que presentan dos alelos en relaciones de dominancia se partió del supuesto de que existe equilibrio genético y se calculó la frecuencia génica del alelo recesivo como:

$$q = \sqrt{\text{frecuencia fenotípica}}$$

Y la del dominante como:

$$p = 1 - q$$

Se calcularon la heterocigosidad esperada y observada. La diversidad genética dentro y entre las poblaciones (Nei,1973) y el grado de diferenciación F_{st} (Wright, 1965)

VI RESULTADOS

Caracteres morfométricos

En el presente trabajo se analizaron datos morfológicos con el objetivo de encontrar una medida que se relacione más con el peso del abdomen sin exoesqueleto, característica de importancia comercial. Este análisis permitió también conocer la variación morfológica en cada población, y dentro de cada una observar como se comporta dicha variación entre sexos y en relación a diferentes números de dientes rostrales.

En la población perteneciente a Tuxpan Veracruz las medidas que más se relacionan con el peso del abdomen sin exoesqueleto son el peso total, el largo del cefalotórax y el largo del segmento 5 respectivamente (Tabla 2). En el caso de la población de Cd. del Carmen son el largo total y el largo del segmento 5. La magnitud de la relación se obtuvo mediante la regresión múltiple paso a paso (Tabla 3).

Tabla 2. Índices de correlación entre las variables morfológicas de dos poblaciones de *Penaeus setiferus* del Golfo de México (Tuxpan, sobre la diagonal y Ciudad del Carmen bajo la diagonal).

0	LT	LC	AC	Ls5	Ls6	Ps6	PT	Pcc	Pcs
LT									
LC	0.7141		0.5037	0.6104	0.1815	0.4193	0.8830	0.2982	0.8928
AC	0.4804	0.3352		0.4699	0.1430	0.3071	0.5558	0.1684	0.5249
Ls5	0.8622	0.6843	0.4660		0.0152	0.3134	0.7166	0.1175	0.8947
Ls6	0.7211	0.5821	0.3666	0.6349		0.1334	0.0235	0.0227	0.0266
Ps6	0.1125	0.0769	0.0398	0.1256	0.2412		0.5052	0.1811	0.5198
PT	0.9144	0.6850	0.4745	0.8418	0.6842	0.1073		0.3236	0.9696
Pcc	0.9572	0.7285	0.4994	0.8299	0.7023	0.1002	0.9305		0.3435
Pcs	0.9646	0.7082	0.5247	0.8500	0.7131	0.1019	0.9328	0.9802	

LT=Largo total, LC=Largo del cefalotórax, AC=Ancho del cefalotórax, Ls5=Largo del segmento5
Ls6=Largo del segmento 6, Ps6=Profundidad del segmento 6, PT=Peso total, Pcc=Peso del
abdomen con exoesqueleto, Pcs=Peso del abdomen sin exoesqueleto.

Tabla 3. Ecuaciones de regresión para las variables morfológicas de mayor correlación con el peso del abdomen sin exoesqueleto (PCs) del camarón blanco *Penaeus setiferus* de las poblaciones de Tuxpan y Cd. del Carmen.

Tuxpan	Cd. Del Carmen
$PCs = 0.4414 PT + 2.1091$ $R = 0.9401$ $r = 0.9696$	$PCs = 3.0038 LT - 27.6727$ $R = 0.9308$ $r = 0.9647$
$PCs = 10.0809 LC - 17.35$ $R = 0.7972$ $r = 0.8929$	$PCs = 0.4452 PT + 2.0049$ $R = 0.8699$ $r = 0.9327$
$PCs = 19.9398 Ls5 - 9.0011$ $R = 0.4827$ $r = 0.6948$	$PCs = 24.5456 Ls5 - 16.5565$ $R = 0.7226$ $r = 0.8500$

PCs=Peso del abdomen sin exoesqueleto, PT=Peso total, LC=Largo del Cefalotórax, Ls5=Largo del segmento 5 del abdomen, LT=Largo total, R=Coefficiente de determinación y r=Coefficiente de correlación.

Además se calculó el índice de rendimiento alimenticio del abdomen con y sin exoesqueleto, obteniéndose los valores en Tuxpan de 64.54% y 50.07% respectivamente, y en Cd. del Carmen 65.86% y 55.08%.

Se observó que en ambas poblaciones la mayor frecuencia la presentó la clase de 9 dientes rostrales por lo que en los análisis que se realizarán se agruparon en 9 dientes rostrales contra el resto. También se puede observar que, en Cd. del Carmen, el 51% de la población presentó 9 dientes rostrales, mientras que en Tuxpan el 73.8% pertenece a esta clase (Figura 2). En ambas poblaciones la proporción de sexos no varió de 1:1.

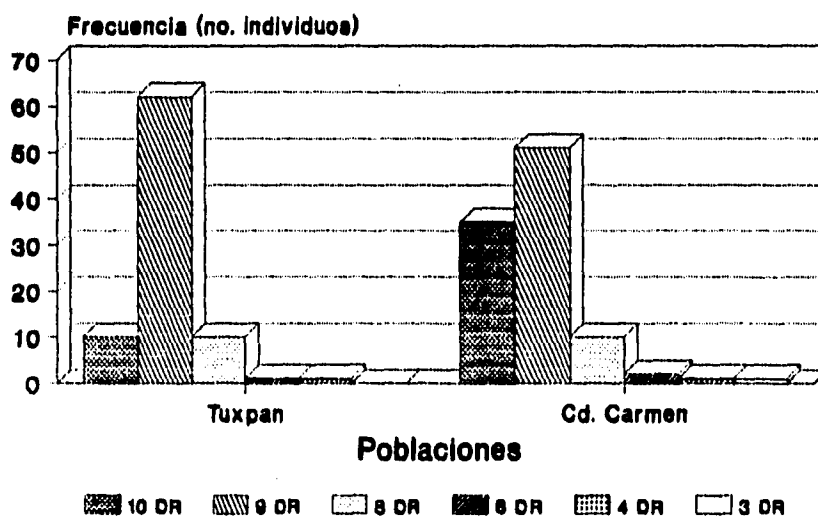


Figura 2. Frecuencia de aparición de los distintos patrones de dientes rostrales en dos poblaciones de camarón blanco *Penaeus setiferus* del Golfo de México.

Análisis genético-bioquímico

Para la realización de éste análisis se seleccionaron 8 proteínas que muestran patrones polimórficos, entre las cuales se encuentran 3 oxidorreductasas, una mutasa, 3 hidrolasas y 2 loci de proteínas totales.

OXIDORREDUCTASAS	MUTASA	HIDROLASA	PROTEINAS TOTALES
Malato deshidrogena (MDH)	Fosfoglucomutasa (PGM)	Esterasas	
Peroxidasas			

Las moléculas bioquímicas, son lo más "cercano" a los genes, éstas brindan la mejor información sobre la variabilidad genética de la población. (Berovides y Alfonso, 1987). En estudios anteriores se han encontrado comportamientos polimórficos para estas proteínas, y fueron elegidos ya que los genotipos heterocigóticos están mejor caracterizados para aceptar perturbaciones ambientales que los homocigóticos.

Oxidorreductasas

La malato deshidrogenasa (MDH) fue una de las oxidorreductasas estudiadas. (Figura 3). Esta enzima resulta ser polimórfica mostrando 3 alelos en relación de codominancia. Es decir, como se muestra en la Figura 3 (los resultados se muestran en forma de esquema ya que no se contó con la posibilidad de obtener buen material fotográfico de los geles) al observar el gel se encontraron 3 movillidades distintas, como se mencionó anteriormente a la movillidad más rápida se le llama a aquella que en un mismo tiempo de corrida se desplaza más hacia la carga positiva (en este caso), si se observa una sola banda la hipótesis más simple es pensar que es homocigótica y recibe el nombre de aa, si se observan dos bandas se trata de un heterocigótico De los 6 fenotipos posibles no se observó el homocigótico para la movillidad más lenta, es decir el equivalente a cc.

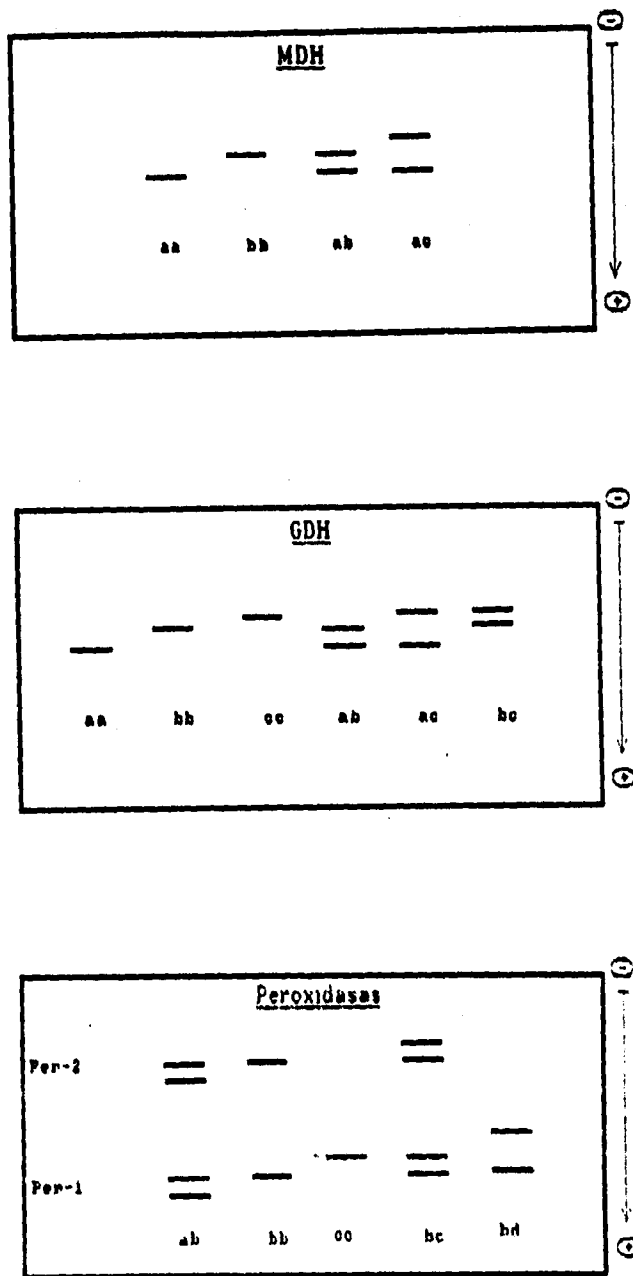


Fig. 3 Electroretograma de MDH, GDH y PEROXIDASA del camarón blanco *R. setiferus*.

El alelo a se presentó en mayor frecuencia en las dos poblaciones, no se encontraron diferencias significativas de las frecuencias génicas entre las poblaciones (Tabla 4).

La Glutamato deshidrogenasa (GDH) (Fig.3) mostró 3 alelos en relación de codominancia. Esto es tres moviidades distintas a,b,c, En éste caso existen 6 fenotipos posibles: aa,ab,ac,bb,dc,cc, todos se encontraron en las dos poblaciones, las cuales fueron homogéneas para la frecuencia génica.

Las peroxidases mostraron un patrón de bandas complejo en el que se destacan 2 zonas polimórficas. (Fig.3) A la primera zona se le llamó Per-1, la cual mostró hasta 4 alelos en ambas poblaciones. En la población de Tuxpan falta el alelo d y no están presentes los fenotipos dd y cd. Se debe destacar que estos alelos que caracterizan cada población se encuentran en baja frecuencias (Tabla 4). Y el alelo b es el más común en ambas localidades.

La segunda zona o Per-2 mostró hasta 3 alelos, el alelo a no está presente en Cd. del Carmen al igual que el fenotipo c homocigótico. En Tuxpan no se observaron los fenotipos aa, cc ni ac. El alelo b es el más frecuente en ambas poblaciones. Las dos poblaciones se mostraron homogéneas para las frecuencias génicas de los loci de peroxidases.

Mutases

En esta clase la única enzima analizada fue la fosfoglucomutasa (PGM). En la cual se observaron 3 alelos en relación de codominancia (Figura 4). En la población de Tuxpan no se presentaron los fenotipos cc y bc. En Cd. del Carmen faltaron los fenotipos ac y cc. Existen diferencias significativas para la frecuencia génica de ambas poblaciones. El alelo a es el más frecuente en Tuxpan, mientras que el b lo es en Cd. del Carmen (Tabla 4).

Tabla 4. Frecuencias génicas y valores de G resultantes de la comparación entre dos poblaciones de camarón blanco *Penaeus setiferus* del Golfo de México.

Locus Alelos	Poblaciones		G
	Tuxpan (N= 84)	Ciudad del Carmen (N= 101)	
MDH			
a	0.735±0.04	0.609±0.06	
b	0.204±0.04	0.286±0.06	3.30
c	0.061±0.02	0.125±0.04	ns
GDH			
a	0.434±0.03	0.495±0.03	
b	0.429±0.03	0.404±0.03	1.83
c	0.137±0.02	0.101±0.01	ns
Per-1			
a	0.018±0.01	0.000±0.00	
b	0.911±0.02	0.906±0.02	0.034
c	0.072±0.02	0.089±0.02	ns
d	0.000±0.00	0.005±0.00	
Per-2			
a	0.036±0.01	0.000±0.00	
b	0.940±0.01	0.960±0.01	0.054
c	0.023±0.01	0.039±0.01	ns
PGM			
a	0.653±0.05	0.075±0.04	
b	0.278±0.05	0.825±0.06	40.67
c	0.069±0.03	0.100±0.05	***
Est-1			
a	0.230±0.03	0.270±0.03	0.439
o	0.770±0.03	0.730±0.03	ns
Est-2			
a	0.280±0.03	0.280±0.03	0.012
o	0.720±0.03	0.720±0.03	ns
Est-3			
a	0.387±0.03	0.515±0.03	
b	0.452±0.03	0.332±0.03	8.53
c	0.161±0.03	0.153±0.02	*
Fosf-1			
a	0.720±0.03	0.901±0.02	19.19
b	0.279±0.03	0.099±0.02	***
Fosf-2			
a	0.946±0.01	0.935±0.01	0.009
b	0.053±0.01	0.064±0.01	ns
Fosf-3			
a	0.927±0.02	0.950±0.01	
b	0.066±0.02	0.040±0.01	1.427
c	0.006±0.00	0.010±0.01	ns
Ami			
a	0.855±0.02	0.930±0.01	4.78
b	0.144±0.02	0.070±0.01	*
PT-1			
a	0.922±0.02	0.887±0.02	1.80
b	0.078±0.02	0.113±0.02	ns
PT-2			
a	0.887±0.02	0.926±0.02	1.22
b	0.113±0.02	0.074±0.02	ns

Las letras representan los alelos. ns = no significativo, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$.

Hidrolasas

Para las esterasas se encontró un patrón complejo de bandas donde se localizaron 3 zonas polimórficas, las líneas de bandas que se presentaban sin cambios fueron desechadas y solamente se tomaron en cuenta las que mostraron distintas movilidades, es decir que son polimórficas. Entonces a las zonas polimórficas se les denominó Est-1, Est-2 y Est-3, Figura 5.

En el caso de Est-1 y Est-3 se presentan dos alelos con relación de dominancia cuyas frecuencias no difieren significativamente. La Est-3 presentó 2 alelos cuyas frecuencias génicas fueron diferentes en las dos poblaciones, el alelo b es el más frecuente en Tuxpan mientras que el a lo es en Cd. del Carmen.

Las fosfatasas presentaron un patrón de bandas con 3 zonas polimórficas denominadas Fosf-1, Fosf-2 y Fosf-3. La Fosf-1 y Fosf-2 presentaron dos alelos en relación de codominancia, mientras que en la Fosf-3 se presentaron 3. El alelo a es el más frecuente en los tres sistemas para ambas poblaciones. Solo la Fosf-1 mostró diferencias significativas en los valores de frecuencias génicas entre ambas localidades.

La amilasa (Fig. 5) mostró un comportamiento semejante al de las Fosf-1 y Fosf-2 y sus frecuencias génicas mostraron diferencias entre las dos poblaciones, (Tabla 4).

Proteínas totales

Las proteínas totales mostraron un complejo patrón de bandas en su mayoría monomórficas, es decir sin cambios visibles en el gel, dos de las zonas mostraron polimorfismo (Figura 6). En ambos casos se mostraron 6 juegos de bandas, en las dos poblaciones el alelo a es el más frecuente y no existen diferencias significativas entre las dos poblaciones. La tinción de las Proteínas Totales se realizó con azul de Coomassie R 250 al 0.4%.

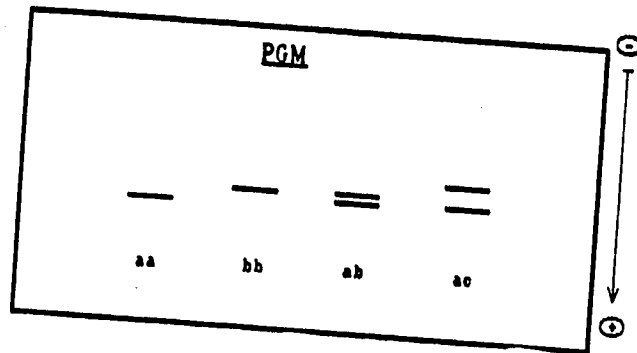
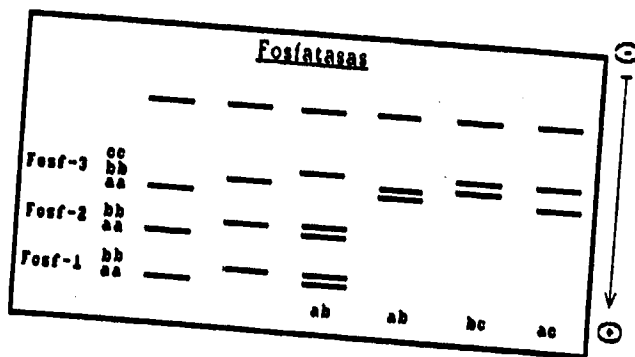
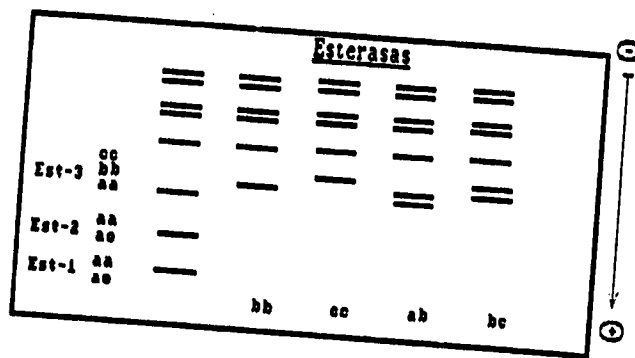


Fig. 4 Electroforetograma de PGM del camarón blanco *P. setiferus*.



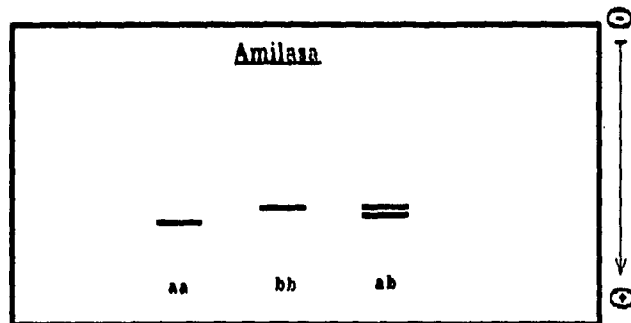


Fig. 5 Electroforetograma de Esterasas, Fosfatasa y Amilasas del camarón blanco *P. setiferus*.

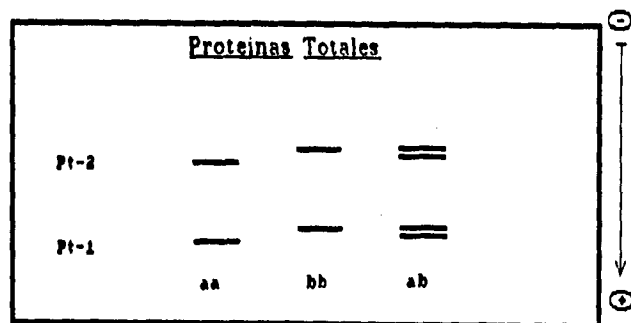


Fig. 6 Electroforetograma de Proteinas totales del camarón blanco *P. setiferus*.

Frecuencias génicas por sexos y clases de dientes rostrales

Para 10 de las proteínas estudiadas se analizó si existía relación entre las frecuencias génicas, las clases de sexos y número de dientes rostrales. En ninguno de los casos la frecuencia génica difiere significativamente entre estos grupos (Tablas 5 y 6).

En las Tablas 5 y 6 se muestran también los valores de Heterocigosidad esperada (H_e) y Heterocigosidad observada (H_o) por sexos y clases de dientes rostrales para cada localidad. En los cuales no se observan diferencias significativas entre éstos.

En Tuxpan las hembras muestran valores de Heterocigosidad mayores que los machos mientras que en Cd. del Carmen sucede lo contrario, son los machos quienes presentan mayor heterocigosidad.

Con relación a las clases de dientes en general el grupo de nueve dientes rostrales es más variable que el resto.

Equilibrio génico de Hardy-Weinberg.

Al comparar las frecuencias esperadas con las observadas para el equilibrio de Hardy-Weinberg se encontró que el 79% de las comparaciones están en equilibrio genético. Se observó que en la población de Tuxpan Fos-1, amilasa, Est-3 y PGM se encuentran en desequilibrio genético siendo en todos los casos positivo el índice de fijación mientras que en Cd. del Carmen sólo la Est-3 se encontró en desequilibrio con un valor positivo del índice de fijación (Figura 7).

Tabla 5. Frecuencias génicas, valores de G resultantes de la comparación por sexos y heterocigidad esperada y observada de dos poblaciones de camarón blanco *Penaeus setiferus* del Golfo de México.

Locus Alelos	Poblaciones					G
	Tuxpan		G	Ciudad del Carmen		
	Hembras (N=43)	Machos (N=41)			Hembras (N=52)	Machos (N=48)
GDH						
a	0.372±0.05	0.500±0.05	0.07	0.461±0.04	0.532±0.05	1.81
b	0.488±0.05	0.366±0.02	ns	0.413±0.04	0.393±0.05	ns
c	0.139±0.03	0.134±0.04		0.125±0.03	0.074±0.03	
Per-1						
a	0.012±0.01	0.024±0.01		0.000±0.00	0.000±0.00	
b	0.884±0.03	0.939±0.02	3.39	0.906±0.02	0.906±0.03	1.57
c	0.105±0.03	0.036±0.02	ns	0.094±0.02	0.083±0.03	ns
d	0.000±0.00	0.000±0.00		0.010±0.01	0.000±0.00	
Per-2						
a	0.046±0.02	0.024±0.01		0.000±0.00	0.000±0.00	
b	0.942±0.02	0.939±0.02	1.73	0.962±0.02	0.958±0.03	0.048
c	0.011±0.01	0.036±0.02	ns	0.037±0.02	0.042±0.03	ns
Est-3						
a	0.305±0.05	0.465±0.05		0.462±0.04	0.573±0.05	
b	0.524±0.05	0.384±0.05	1.58	0.358±0.04	0.302±0.05	2.65
c	0.171±0.04	0.151±0.03	ns	0.179±0.03	0.125±0.03	ns
Fosf-1						
a	0.686±0.05	0.756±0.04	0.70	0.951±0.02	0.885±0.03	0.22
b	0.314±0.05	0.244±0.04	ns	0.085±0.02	0.115±0.03	ns
Fosf-2						
a	0.953±0.02	0.939±0.02	0.006	0.934±0.02	0.937±0.02	0.0008
b	0.046±0.02	0.061±0.02	ns	0.066±0.02	0.063±0.02	ns
Fosf-3						
a	0.907±0.03	0.950±0.01		0.952±0.02	0.947±0.02	
b	0.081±0.03	0.050±0.02	2.024	0.038±0.02	0.042±0.02	5.800
c	0.011±0.01	0.000±0.00	ns	0.010±0.01	0.010±0.01	ns
Ami						
a	0.825±0.04	0.884±0.03	0.730	0.943±0.02	0.917±0.03	0.220
b	0.175±0.04	0.116±0.03	ns	0.056±0.02	0.083±0.03	ns
PT-1						
a	0.911±0.03	0.936±0.03	0.097	0.895±0.03	0.878±0.03	0.012
b	0.089±0.03	0.064±0.03	ns	0.105±0.03	0.122±0.03	ns
PT-2						
a	0.869±0.04	0.905±0.03	0.38	0.943±0.02	0.906±0.03	0.543
b	0.131±0.04	0.095±0.03	ns	0.057±0.02	0.094±0.03	ns
He	0.285	0.255		0.22	0.38	
Ho	0.263	0.224		0.20	0.229	

Las letras representan los alelos. ns = no significativo, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$.

Tabla 6. Frecuencias génicas, valores de G resultantes de la comparación por dientes rostrales y heterocigosidad de dos poblaciones de camarón blanco *Penaeus setiferus* del Golfo de México. (9DR= Clase de 9 dientes rostrales y RDR= Clase del resto de dientes rostrales).

Locus Alelos	Poblaciones					
	9 DR (N=69)	Tuxpan RDR (N=22)	G	9 DR (N=51)	Ciudad del Carmen RDR (N=49)	G
GDH						
a	0.452±0.04	0.289±0.07		0.527±0.05	0.455±0.05	
b	0.395±0.04	0.605±0.07	4.96	0.373±0.05	0.443±0.05	1.126
c	0.153±0.03	0.105±0.04	ns	0.100±0.03	0.102±0.03	ns
Per-1						
a	0.008±0.01	0.045±0.03		0.000±0.00	0.000±0.00	
b	0.903±0.02	0.932±0.04	4.65	0.843±0.03	0.890±0.03	2.81
c	0.089±0.02	0.023±0.02	ns	0.157±0.03	0.100±0.03	ns
d	0.000±0.00	0.000±0.00		0.000±0.00	0.010±0.01	
Per-2						
a	0.032±0.01	0.047±0.03		0.000±0.00	0.000±0.00	
b	0.952±0.02	0.929±0.03	0.307	0.961±0.02	0.960±0.02	0.110
c	0.016±0.01	0.024±0.02	ns	0.039±0.02	0.040±0.02	ns
Est-3						
a	0.417±0.04	0.312±0.07		0.569±0.05	0.460±0.06	
b	0.458±0.05	0.438±0.07	4.10	0.284±0.04	0.380±0.05	2.61
c	0.125±0.03	0.250±0.06	ns	0.147±0.03	0.160±0.04	ns
Fosf-1						
a	0.726±0.04	0.705±0.07	0.006	0.902±0.03	0.900±0.03	0.036
b	0.274±0.04	0.295±0.07	ns	0.098±0.03	0.100±0.03	ns
Fosf-2						
a	0.935±0.02	0.977±0.02	0.008	0.930±0.02	0.941±0.02	0.001
b	0.065±0.02	0.022±0.02	ns	0.070±0.02	0.059±0.02	ns
Fosf-3						
a	0.927±0.02	0.929±0.01	0.806	0.951±0.02	0.949±0.02	3.282
b	0.064±0.02	0.071±0.02	ns	0.049±0.02	0.031±0.02	ns
c	0.008±0.01	0.000±0.00		0.000±0.00	0.020±0.01	
Ami						
a	0.861±0.03	0.841±0.05	0.005	0.912±0.03	0.950±0.02	0.633
b	0.139±0.03	0.159±0.05	ns	0.088±0.03	0.050±0.02	ns
PT-1						
a	0.911±0.03	0.954±0.03	0.375	0.893±0.03	0.881±0.03	0.003
b	0.089±0.03	0.046±0.03	ns	0.107±0.03	0.119±0.03	ns
PT-2						
a	0.869±0.03	0.934±0.04	0.929	0.912±0.03	0.940±0.02	0.248
b	0.131±0.03	0.066±0.04	ns	0.088±0.03	0.060±0.02	ns
He	0.27	0.25		0.24	0.238	
Ho	0.24	0.24		0.28	0.228	

Las letras representan los alelos. ns = no significativo, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$.

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

Variabilidad genética y morfológica

La diversidad y grado de diferenciación genética entre las dos poblaciones de *P. setiferus* estudiadas se muestra en la Tabla 7, a través de varios índices. Los valores indican que la mayor diferenciación existe dentro de las poblaciones.

Tabla 7. Diversidad y grado de diferenciación genética entre dos poblaciones de *Penaeus setiferus* del Golfo de México.

No. de Loci estudiados	14
Diversidad	
Total	0.307
Dentro	0.304
Entre	0.003
Relativa	0.009
Índice de diferenciación (Fst)	0.040
Distancia de Nei	0.038
Identidad de Nei	0.963

La Figura 8 muestra los valores de heterocigosidad y los valores promedio de los coeficientes de variación para cada una de las poblaciones. Se observó que la población de Cd. del Carmen con mayor variación morfológica es la que muestra menor variación genética.

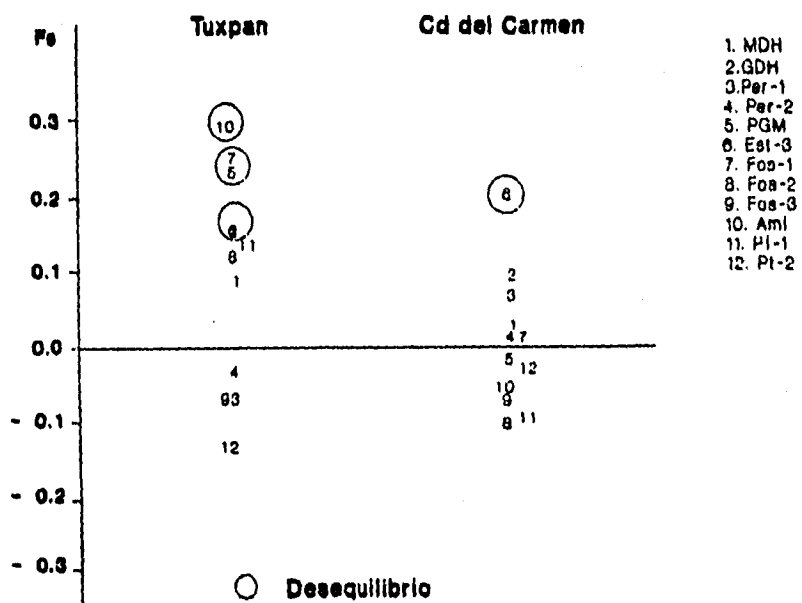


Fig. 7 Desviaciones del equilibrio genético de los diferentes loci en poblaciones de *P.setiferus*

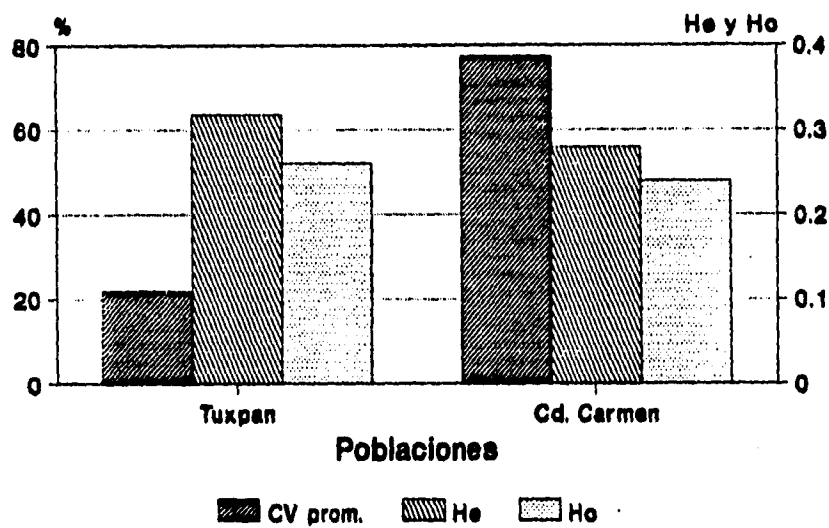


Figura 8. Variabilidad morfológica (CV prom.) y variabilidad genética (He y Ho) en dos poblaciones de *Penaeus setiferus* del Golfo de México.

VII DISCUSION

Caracteres morfológicos

Para llevar a cabo el análisis morfológico se tomaron un grupo de medidas referidas por Lester (1983) como aquellas que tienden a dañar poco al animal al ser tomadas, y que son referentes al interés comercial.

El análisis de correlación mostró que la variable más altamente correlacionada con el peso de la cola sin exoesqueleto, que es un caracter muy importante económicamente en el camarón, es la longitud del segmento 5 (Is5) la más adecuada. Esta medida es más fácil de obtener en un camarón vivo y su determinación produce poco daño al animal.

Otros autores han reportado distintos resultados, Lester (1983) obtuvo a la profundidad del segmento 6 (Ps6) como la variable de mayor correlación en *Penaeus vannamei* y *P. stylirostris* y Díaz et al (en prensa) encontraron que la variable más correlacionada con el peso de la cola es el peso total (PT) en estas mismas especies.

Godswamy et al (1986) examinaron 17 medidas en *P. merguensis* de 2 localidades diferentes y determinaron que la longitud parcial del caparacho, la longitud del exópodo del urópodo o la circunferencia abdominal posterior fueron los estimadores más exactos del peso de la cola en la población analizada.

En relación a que nueve dientes rostrales sea la clase más frecuente también, De Dios (1990) encontró en tres poblaciones naturales de *P. scmitti* este comportamiento.

Análisis genético bioquímico

Comportamiento de las proteínas

Este trabajo se realizó después de una selección de proteínas que habían sido referidas como polimórficas por Labacena et al (1994) en 4 especies de *Penaeus* y utilizando fundamentalmente electroforesis en geles de poliacrilamida, lo cual permitió detectar alelos que se diferencian muy poco en movilidad electroforética.

Estos alelos, probablemente por este hecho no pudieron ser detectados empleando la técnica de electroforesis en gel de almidón. El uso de técnicas que no son sensibles a detectar polimorfismo en "GDH" puede ser la razón fundamental por la que se atribuye la inexistencia de polimorfismo en enzimas como GDH, que había sido referida por Hedgecock et al (1982) como una de las de menor polimorfismo entre los crustáceos. De igual forma Muller y Latter (1980) informan monomorfismo en 13 especies de *Penaeus* y *Metapenaeus* para la GDH y las otras dos oxido reductasas (MDH y Peroxidasa) que se utilizaron en este trabajo.

La PGM ha sido referida como polimórfica en *P. setiferus* por Marvin y Callouet (1976) los que informan 5 alelos a diferencia de los 3 que se observaron en este trabajo. En otras especies de *Penaeus* se ha informado polimorfismo de esta enzima, este es el caso de *P. notialis* (Villaescusa et al 1984), *P. japonicus* (Sbordoni et al 1986), *P. stylirostris* y *P. schmitti* (Labacena et al 1994).

El comportamiento de las esterasas es similar al encontrado por Espinosa et al (1989) en *P. Schmitti* y *P. notialis* y por Labacena et al (1994) en *P. schmitti*, *P. stylirostris*, *P. vannamei* y *P. notialis*. El patrón de bandas que presentaron las fosfatasa es similar al que informan para *P. schmitti* (Matos, 1992) y *P. notialis* (Espinosa et al, 1994) Estos autores sin embargo encontraron solo polimorfismo

en la Fosf-3. También Muller y Latter (1980) refieren polimorfismo en las fosfatasa alcalinas.

El comportamiento de las amilasas es similar al informado por Díaz *et al* (1994) para poblaciones cubanas de *P. schmitti* y por Espinosa *et al* (1994) en las poblaciones de *P. notialis*.

Muller y Latter (1980) refieren varios loci de proteínas totales en especies de *Panaeus*. De igual forma analizando 1 y 2 loci de este tipo de proteínas Espinosa *et al* (1994) encuentran polimorfismo en *P. notialis* y Díaz *et al* (1994) en *P. schmitti*. Las frecuencias génicas de Est-3 y amilasa han permitido diferenciar poblaciones cubanas de *P. schmitti* (Díaz *et al* 1994) y *P. notialis* Espinosa *et al* (1994). Por otra parte estos autores no encuentran diferencia para las frecuencias génicas de fosf-1 en estas mismas poblaciones.

El hecho de no encontrar diferencias significativas dentro de las clase de sexos y dientes rostrales, permite estudiar la población sin subdividirla en diferentes clases. Por otra parte el comportamiento diferente de la variabilidad genética no nos permite establecer una tendencia general en especial.

Equilibrio genético de Hardy-Weinberg (H-W)

La ley de H-W establece que por sí mismo, el proceso de la herencia no cambia ni las frecuencias alélicas (en poblaciones con apareamiento al azar) ni las frecuencias genotípicas de un locus dado (Ayala y Kiger, 1984).

Al estudiar del polimorfismo de proteínas se requiere establecer una determinada hipótesis genética que justifique este comportamiento polimórfico, la verificación de esta hipótesis en las poblaciones naturales puede lograrse a través de la determinación del equilibrio genético como prueba de que las

variantes están determinadas por alelos sin dominancia. Esto puede ser analizado a través del índice de fijación (Fis); los valores positivos de Fis, indican una deficiencia de heterocigóticos y los negativos un exceso (Sunden y Davis, 1991).

Los pocos casos de desequilibrio encontrados en este trabajo (valores de Fis positivos) se deben a déficit de heterocigóticos. Es muy probable que este déficit se deba a que se trata de organismos altamente explotados. La pesca del camarón es una actividad de antaño, los pueblos originales que habitaron el territorio mexicano desarrollaron la pesca (Sierra y Zepeda, 1977). En un principio se trataba de una explotación desmesurada, hasta 1917 el poder soberano pesquero se contempló en el artículo 27 de la constitución de éste año (Barragán, 1985)

Este tipo de desequilibrio ha sido referido por Espinosa *et al* (1991) para la población larval de Cuba de *Panulirus argus* y también en otros animales que habitan el ambiente marino (Zouros *et al*, 1980).

La única enzima que muestra desequilibrio en las dos poblaciones es la Est-3, su desequilibrio se puede deber a la posible existencia de un alelo silente, ya que este ha sido referido por Espinosa *et al* (1989) y Labacena *et al* (1994) en otras especies del género *Penaeus*. El hecho de que los otros tres sistemas estén en desequilibrio en la población de Tuxpan se puede deber a un pequeño tamaño efectivo de la población, pues la colecta se realizó en una época en la cual no hay pesquería del camarón blanco en esta zona por su poca abundancia.

Variabilidad genética y morfológica

Al comparar los valores de diversidad genética con las de otros crustáceos vemos que son comparables a los resultados de Espinosa *et al* (1991) en larvas de *Panulirus argus* en el sentido de que la mayor parte de la diversidad total corresponde a la diferenciación absoluta dentro de las poblaciones. La diversidad

entre poblaciones obtenida en este trabajo es la mitad de la que refieren estos autores para la población larval y es del mismo orden que la obtenida para la población adulta de esta especie, sin embargo la diversidad relativa es mucho menor en estas dos poblaciones de *P. setiferus* del Golfo de México.

Los valores del índice de diferenciación y distancia de Nei son del mismo orden de magnitud a los obtenidos por Espinosa *et al* (1994) y Díaz *et al* (1994) entre poblaciones cubanas de *P. notialis*, *P. scmitti*, pero son 10 veces más altos que los que informan Dunden y Davies (1991) entre poblaciones del Ecuador, México y Panamá de *P. vannamei*.

Los valores de heterocigosidad son superiores a los referidos por Lester (1979) para especies de *Penaeus*, lo que probablemente se debe a que en el presente trabajo se utilizaron solo loci polimórficos.

Muchos datos publicados en los últimos años relacionan la varianza poblacional de los caracteres morfológicos con el nivel de heterocigosidad de las poblaciones en loci enzimáticos (Mitton y Grant, 1984). Estos datos en general ratifican la hipótesis de Lerner (1954) según la cual las poblaciones con mayor heterocigosis génica poseen una mayor homeostasis o estabilidad del desarrollo, que se refleja en una menor varianza de sus caracteres morfológicos (Soule, 1979).

Al comparar especies de amplia tolerancia ecológica (generalistas), con aquellas de amplitud más estrecha, como se esperaba el grado de heterocigocidad de la población fue mucho mayor para el primer grupo, para determinadas especies no siempre se da esta relación. (Berovides y Alfonso, 1987)

En este caso la población de Cd. del Carmen es la menos variable y por lo tanto la de menor homeostasis o eficacia fisiológica; sería entonces la más sensible a las variaciones ambientales que inevitablemente ocurren.

VIII CONCLUSIONES

La medida que se propone en este trabajo para estimar el peso de la cola sin exoesqueleto es la longitud del segmento 5, ésta es una medida relativamente fácil de obtener, y que esta muy relacionada con el peso total del abdomen sin exoesqueleto.

El rendimiento alimenticio es mayor en Cd. del Carmen que en Tuxpan. La proporción de sexos es de 1:1 en ambas poblaciones.

Las poblaciones se encuentran en un 70% en equilibrio genético. Los datos de desequilibrio genético encontrados se deben a un déficit de heterocigóticos, esto es explicable si se toma en cuenta que las especies estudiadas son explotadas fuertemente.

Las frecuencias genéticas de los patrones enzimáticos PGM, Est-3, Fosf-1 y Amilasa, diferencian las poblaciones de Tuxpan y Cd. del Carmen.

La población de camarón blanco *P. setiferus* de Ciudad del Carmen presenta mayor variación morfológica y menor variabilidad genética que la de Tuxpan, Veracruz; es por tanto la de menor homeostasis o eficacia fisiológica. Ser la de menor homeostasis podría resultar una desventaja ante cambios bruscos en el ambiente, además de no ser la ideal si se busca una población inicial para un cultivo.

Existe poca diferenciación entre las poblaciones de *P. setiferus* analizadas, correspondiendo la mayor parte a la diferenciación dentro de las poblaciones.

IX Apéndice 1

Preparación de los geles de poliacrilamida

Se preparan las siguientes soluciones para la elaboración de los geles de acrilamida.

Para el gel separador:

Solución A: 3 mol/l Tris (hidroximetilaminometano), 0.23% de N,N,N',N'-tetrametiletildiamino (TEMED) (v/v) en agua destilada, ajusta a pH 8.9 con el volumen necesario de 1 ml/l HCl.

Solución C: 30% de acrilamida (p/v), 0.8% de N, N'-metilen bisacrilamida (p/v) en agua destilada.

Solución PA; 0.14% de persulfato de amonio (p/v)

Para el gel concentrador:

Solución B; 0.46 mol/l tris (hidroximetilaminometano), 0.27 mol/l ácido fosfórico, 0.23% de N,N,N',N'-Tetrametiletildiamino (TEMED) (v/v) en agua destilada pH= 6.9

Solución D; 10% acrilamida, 2,5% bisacrilamida en agua destilada

Solución E; 0.006% de riboflavina en agua destilada

Solución F; 40% de sacarosa en agua destilada

Apéndice 2

Se llena el equipo hasta una altura de 5.5 cm. A continuación se cubren cuidadosamente con una pequeña capa de agua para evitar la formación del menisco. La polimerización tiene lugar entre 30 y 60 minutos. Luego se lleva a cabo la preparación del gel concentrador, mezclando en proporción 1:3:1:3 (B/D/E/F, v/v/v). La mezcla se introduce en el equipo sobre el gel separador eliminando previamente el agua, se cubre con los moldes y se coloca entre dos

lamparas de luz fluorescente para que ocurra la polimerización durante un tiempo de 15 a 30 min.

Apéndice 3

Preparación de los geles de Almidón.

Tampon I: 0.3 Mol/l Tris (hidroximetil aminometano)

0.05 Mol/l Ácido acético, pH=8.3

Tampon II: 0.06 Mol/l OH, 0.03 mol/l ácido Bórico pH=8.1

EL gel se prepara usando una mezcla de los tampones I:II en la proporción 9:1 y el tampon II se utilizo para el electrodo.

BIBLIOGRAFIA

Ayala, F.J. y J. Kiger. 1984. Genética Moderna. Barcelona Edic. Omega 836 pp

Barragán, J. 1985. El poder soberano pesquero del Estado Mexicano, Cap. 17:693-744. Recursos Pesqueros Potenciales de México: la pesca acompañante del camarón, Prog. Univ. de Alim. UNAM, Pesca. 748 pp

Berovides V., A. Alfonso. 1987. Los genes en las poblaciones. Imp. Adre Voisin. Universidad de la Habana. Cuba. 277 pp

Brown, A.M. Vey J. P. Scott B.M. Williams, T.D. Middledtch, B.S. y Lawrence, A.L. 1979. The maturation and sapwning of *Penaeus stilirostris* under laboratory condition. Proc. World. Maricult. Soc. 11:488-499.

Brussard, P.F. M.C. Holl y J. Wright. 1981. Structure and affinities of freshwater sea lamprey *Pelomyzan marinus*. Can. J. Fish. Ag. Sci. 38 (12): 1708-1714 pp.

Davis, B.J. 1964. Disc electrophoresis. Part II. Ann N.Y. Acad. Sci. (121): 402-421 pp

De Dios, R. 1990. Variación de las esterasas de músculo de *Penaeus schmitti* en poblaciones naturales y de cultivo. Trabajo de Tesis de Licenciatura. Fac. Biología. Universidad de la Habana.

Díaz, R., M.E. Marquez, G. Espinosa y V. Berovides. (En prensa). Estudio morfométrico y electroforético de tres especies de camarones *Penaeidos* en cultivo. Rev. Invest. Marinas.

Díaz, F.R., G. Espinosa J. Matos, O. Santana. 1994. Relaciones entre poblaciones de *Penaeus schmitti* en las costas de Cuba. Tercer congreso de Ciencias del Mar Ciudad de la Habana, Cuba.

Espinosa, L.G., R. Díaz y V. Berovides. 1991. Análisis genético bioquímico de larvas de *Panulirus argus* de la zona económica exclusiva del sur de Cuba, Rev. Inv. Marinas. (12):20-28

Espinosa, L.G., R. Díaz, J. Paez, R.M. Prats, M.E. Labacena. 1994. Estudio genético bioquímico de la población de *Penaeus notialis* de La Encenada de la Broa, Cuba. Tercer Congreso de Ciencias del Mar Ciudad Habana, Cuba.

Food and Drug Administration. 1992. La situación del mercado norteamericano del Camarón. Voletín del Ocean Garden products INC, año 9. num 49. 14 pp

Garay de, A. 1988. Genética de poblaciones y evolución. Textos UAP. 1a. Ed. México. 278 pp

Harris, H. y D.A. Hopkinon. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. Elsevier. N.Y. 200 pp

Hedgecock, D., M.L. Tracey y K. Nelson. 1982. Biochemical genetics. In the Biology of Crustacea, Academic Press (2):297-313

Labacena, M.E., M. Torres y G. Espinosa. 1994. Variabilidad y distancia genética en especies de *Penaeus*. Rev. Inv. Marinas.

Lawrence, A.L., Akamine, Y., Middleditch, B.S., Chamberlain, G. y D. Hutchins. 1980. Maturation and reproduction of *Penaeus setiferus* in captivity. proc. World Maricul. Soc., (11):481-487.

Lerner, I.M. 1954. Genetic Homeostasis. Oliver and Boyd. Edinburg. 174 pp

Lester, L.J. 1979. Population genetics of penaeid shrimp from the gulf of Mexico. J. Hered. (70): 175-180

Lester, L.J. y M.J.R. Pante. 1962. Genetic of *Penaeus* species. Caper III. Marine shrimp culture. Principles and practices. Arlo W. Fast and L. James Lester. Editors.

Malecha, S.R. 1983. Crustacean genetics and breeding an overview. Aquaculture. (33):395-413

Malecha, S.R. 1987. Selective breeding and intraespecific hibridization of crustaceans. Proc. World Symp on selection, hibridization and genetic engineering in Aquaculture. (1):323-336

Martinez, R. 1993. Camaronicultura. Bases técnicas y científicas para el cultivo de camarones peneidos. 1a. De. AGT Editor. México. 233 pp

Marvin, K.T. y C.W. Caillouet. 1976. Phosphoglucomutase polymorphism in white shrimp *Penaeus setiferus*. Comp. Biochem. Physiol. (53 B):127-131

Matos, L.J. 1992. Distancia y variabilidad genética entre poblaciones de *Penaeus schmitti*. Trabajo de tesis de licenciatura. Fac. de Biología, Universidad de la Habana

Mitton, J.B. y M.C. Grant. 1984. Associations among protein heterozygosity growth rate, and developmental homeostasis. Annu. Rev. Ecol. Syst. (15):479-499

Morre, D.H. 1986. Physical techniques in biological research. Vol. III. Physical chemical techniques. Segunda edición. Academic Press. N. Y.

Mulley, J.C. y B.D. H. Latter. 1980. Genetic variation and evolutionary relationship within a group of certain species of *penaids* prawns. Evolution 34(5):904-916.

Mulley, J.C. y B.D.H. Latter. 1981. Geographic differentiation of tropical australian penaeid prawn populations. Aust. J. Mar Freshwater. (32):897-906.

Nance, M., E. Klima, T., E. Czaplá. 1989. Gulf of Mexico Shrimp stock assesemnt workshop. NOAA Technical memorandum. Galveston, Tx. 41pp

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. Am. Naturalist. (106):283-292.

Nei, M. 1973. Analisis of gene diversity in sibdivided populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (70):3321-3323.

Neremberg, R. 1968. Electroforesis. Manual Práctico de Laboratorio. Editorial Barcelona, España.

Ridway, G.J., S.W. Sherburne y R.D. Lewis. 1970. Polymorphisms in the esterases of Atlantic herring. Trans. Am. Fisheries. Soc. (99):147-151

Sbordini, V.E., De Matthaéis, M.Cobolli, G. La Rosa y M. Mattoccia. 1986. Botleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda) Aquaculture, (57):239-251

Shaw, C.R.L. 1964. The use of genetic variation in the analysis of isozyme structure. Brookhaven Symp. Biol. (17):117-130.

Sierra, J., S. Zepeda. 1977. Reseña histórica de la pesca en México.
Departamento de pesca. 95 pp

Sigarroa, A. 1987. Manual de Prácticas de Biometría y Diseño Experimental.
Editorial Pueblo y Educación. Ciudad Habana. Cuba. 154 pp

Soule, M. 1979. Heterozygosity and developmental stability another look.
Evolution. (34):396-401

Sunden, S.L.F. y S.K. Davis. 1991. Evaluation of genetic variation in a domestic
population of *Penaeus vannamei* (Boone). A comparison with three natural
populations. Aquaculture. (97):131-142

Trouveller, K. y G. Nefyodov. 1974. Instrumentos de múltiples usos para la
electroforesis vertical en placas de geles de poliacrilamida. Inf. Cient. de la Esc.
Sup. Cienc. Biol. (9):137-140

Vazquez, E., G. Blanco, J.A. Sanchez, E. García y J. Rubio. 1988. Relación entref
heterocigosidad bioquímica y variabilidad morfológica en un stock de *Salmo
saladar*. Revista de Biol. de la Univ. de Oviedo. (6):2-12

Villaescusa, A., A. Camacho y V. Rivalta. 1984. Polimorfismo de la fosfoglucoasa
isomerasa y de la fosfoglucomutasa en el camarón rosado *Penaeus notialis*.
Ciencias Biológicas. (12):23-29.

Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with
special regard to systems of mating. Evolution. (19):396-420

Zouros, E., S.M. Singh y H.E. Miles. 1980. Growth rate in oysters, an
overdominant phenotype and its possible explanations. Evolution 341 (5):856-867