

195



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

*“Estructura genético-poblacional de tres especies de robalos (Pisces:
Centropomidae) del Pacífico mexicano”*

T E S I S

Para obtener el título de:

B i o l o g o

P r e s e n t a:

Edson Sandoval Castellanos

Con la dirección del:
Dr. Manuel Uribe Alcocer



298966



Universidad Nacional
Autónoma de México

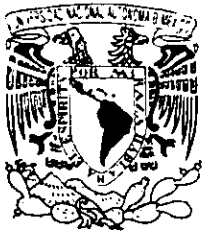


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

"Estructura genético-poblacional de tres especies de robalos
(Pisces: Centropomidae) del Pacífico mexicano"
realizado por Edson Sandoval Castellanos

con número de cuenta 9329333-4, quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dr. Manuel Uribe Alcocer

Propietario

Dr. Luis Medrano González

Propietario

Dr. Felipe Amezcua Linares

Suplente

M. en C. Leticia Huidobro Campos

Suplente

Biol. María de Lourdes Barbosa Saldaña

FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.
Consejo Departamental de Biología

Dra. Patricia Ramos Morales

DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

Agradecimientos

Agradezco al Dr. Manuel Uribe por el enorme apoyo académico, profesional y personal que hicieron posible este trabajo.

Agradezco también a los revisores: Dr. Luis Medrano, Dr. Felipe Amezcua, M. en C. Leticia Huidobro y Biol.. Lourdes Barbosa por las aportaciones y observaciones que hicieron posible llevar a buen término el trabajo aquí presentado.

Extiendo mi agradecimiento al Dr. Píndaro Díaz por proporcionarme todas las herramientas técnicas y cognoscitivas que me permitieron llevar a cabo todo el estudio y análisis aquí aplicado.

De manera especial y emotiva agradezco a mis padres Hugo Sandoval y Yolanda Castellanos por el extraordinario e incondicional apoyo y sustento económico, moral, logístico y humano que me han brindado ininterrumpidamente desde que tengo memoria y al que debo todo. Hago extensivo dicho agradecimiento a mi abuela materna Elodia Escandón así como a mis hermanos Hugo y Jair y a mis demás familiares por brindarme el apoyo que de ellos he recibido, también de manera incondicional e ininterrumpida.

A Evangelina Castillo y a sus padres agradezco la ayuda y sustento moral y de otro tipo que he recibido de manera afectuosa y desinteresada.

También agradezco a mis compañeros de laboratorio y a mis amigos pues ellos han sido partícipes del trabajo que aquí culmino.

Índice

0.1 Agradecimientos.....	II
0.2 Índices.....	III-V
0.3 Resumen.....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Antecedentes.....	7
2.1 Hipótesis.....	18
2.2 Objetivo General.....	19
3. Métodos.....	19
3.1 Muestreo.....	19
3.1.1 Localidades muestreadas.....	19
3.1.2 Colecta de tejido.....	20
3.2 Trabajo experimental.....	22
3.2.1 Isoenzimas.....	22
3.2.2 APD's.....	22
3.3 Análisis.....	26
4. Resultados.....	28
4.1 Isoenzimas.....	28
4.2 RAPD's.....	35
5. Discusión.....	41
5.1 Variación genética.....	41
5.2 Divergencia poblacional.....	43
6. Conclusiones.....	47
7. Bibliografía.....	48
8. Apéndice I.....	54

Índice de figuras y tablas

Introducción:

Fig. 1.1 Producción nacional en peso vivo por litoral de 1987 a 2000.....	2
Fig. 1.2 Producción de robalo por entidad del litoral del Pacífico de 1995 a 2000 en toneladas de peso vivo.....	3

Antecedentes:

Fig. 1.3 Distribución de los robalos en el continente.....	8
Fig. 1.4 Árbol que presenta los principales clados que agrupan a las doce especies de robalos del género <i>Centropomus</i>	9
Fig. 1.5 <i>C. viridis</i> y distribución.....	10
Fig. 1.6 <i>C. medius</i> y distribución.....	10
Fig. 1.7 <i>C. robalito</i> y distribución.....	11

Métodos:

Fig. 3.1 Mapa con la localización de localidades muestreadas.....	20
Tablas 3.1, 3.2 y 3.3 Datos de colecta.....	21
Fig. 3.2 Técnica de isoenzimas.....	23
Fig. 3.3 Técnica de RAPD's.....	27

Resultados

Tabla 4.1 Loci resueltos y sistema de "buffer" utilizados para el análisis de isoenzimas.....	29
Tabla 4.2 Heterocigosis esperadas y observadas por población y por especie y polimorfismo.....	30
Tabla 4.3, 4.4 y 4.5 Frecuencias alélicas de loci polimórficos.....	31-32
Tabla 4.6 Loci polimórficos y en equilibrio de Hardy-Weinberg.....	32
Tabla 4.7 Estadísticos F y probabilidad de la prueba exacta de diferenciación poblacional obtenidas con datos de isoenzimas.....	33
Tabla 4.8, 4.9 y 4.10 F_{ST} estimadas con isoenzimas y RAPD's entre pares de poblaciones de cada especie.....	33
Figura 4.1 Electromorfos de isoenzimas.....	33
Tabla 4.11 Estimados de θ entre pares de poblaciones y probabilidad obtenida con la prueba exacta.....	34
Tablas 4.12, 4.13 y 4.14 Distancias genéticas.....	34
Tabla 4.15 Estimados de migración.....	34
Tabla 4.16 Iniciadores, secuencias y número de bandas/loci.....	35
Tabla 4.17 Heterocigosis esperada (RAPD's).....	35
Tabla 4.18 Estimado de θ y probabilidad de la prueba exacta obtenidas con RAPD's.....	36
Figura 4.2 Dendrográma obtenidas con isoenzimas entre poblaciones de <i>C. viridis</i>	36
Figura 4.3 Dendrográma obtenidas con RAPD's entre poblaciones de <i>C. viridis</i>	37
Figura 4.4 Dendrográma obtenidas con isoenzimas entre	

poblaciones de <i>C. medius</i>	37
Figura 4.5 Dendrográma obtenidas con RAPD's entre poblaciones de <i>C. medius</i>	37
Figura 4.6 Dendrográma obtenidas con isoenzimas entre poblaciones de <i>C. robalito</i>	38
Figura 4.7 Dendrográma obtenidas con RAPD's entre poblaciones de <i>C. robalito</i>	38
Figura 4.8 Patrón de bandeo de RAPD's.....	38
Figura 4.9 Árbol obtenido con F_{ST} de <i>C. viridis</i>	39
Figura 4.10 Árbol obtenido con F_{ST} de <i>C. medius</i>	39
Figura 4.11 Árbol obtenido con F_{ST} de <i>C. robalito</i>	40

Resumen

La pesca del robalo se lleva a cabo en todos los estados costeros de la República Mexicana (a excepción de Baja California) y presenta una importancia económica destacada debido a los altos precios en que se cotiza su carne, no obstante que su volumen de captura no sea muy elevado. De las 10 especies de robalos (*Centropomus sp.*) presentes en aguas mexicanas, cinco habitan aguas del litoral del Pacífico y cinco del Golfo de México. Las especies del Pacífico se distribuyen a todo lo largo de la costa desde Sonora hasta Chiapas. Son organismos demersales, eurihalinos y semicatádromos. Su marcada preferencia a permanecer en aguas dulces o de baja salinidad los limita a realizar extensas migraciones en el ambiente marino. Esto podría imponer una restricción importante al flujo génico entre los grupos que habitan regiones separadas por extensos litorales sin cuerpos de agua dulce intermedios, propiciando la divergencia poblacional.

Para corroborar la presencia de estructura genética poblacional en los robalos del Pacífico mexicano se colectaron muestras de tres especies de robalos: *C. viridis*, *C. medius* y *C. robalito*, provenientes de diversas localidades que fueron agrupadas en tres o cuatro presuntas poblaciones. Mediante la técnica de electroforesis en gel de isoenzimas y la amplificación de DNA polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD's) se obtuvieron los patrones electroforéticos de los fragmentos de DNA, mismos que fueron analizados para obtener frecuencias alélicas, estadísticos descriptivos y estimadores de divergencia poblacional. Los resultados mostraron una variación genética ligeramente alta comparada con otros peces con heterocigosis esperadas de 0.089 a 0.11 obtenidas con isoenzimas y de 0.28 a 0.4 con RAPD's. Entre las localidades muestreadas la de Mazatlán, Sinaloa ostentó los mayores niveles de variación para ambos marcadores y en las tres especies. La divergencia poblacional solamente fue detectada en las especies *C. viridis* y *C. medius* mostrando valores positivos de θ (estadísticos F) y probabilidades significativas en la prueba exacta de diferenciación poblacional aplicada a datos de isoenzimas y de RAPD's. Sin embargo, la divergencia poblacional en *C. viridis* estuvo debilmente sustentada en el análisis de isoenzimas, no así en el de RAPD's. Mientras que *C. robalito* presentó valores no significativos en ambos análisis y con ambos marcadores.

1.1 Introducción

México es un país cuyo territorio está delimitado en su mayor parte por el mar. La gran extensión de su litoral y la excepcional situación geográfica que lo sitúa en la región subtropical con costas hacia el Océano Pacífico, Golfo de California, Golfo de México y Mar Caribe, hace de México un país con amplias expectativas de desarrollo en el mar. Por ello es de esperarse que la pesca constituya un importante componente del sector productivo del país. Las pesquerías más importantes del país son las del camarón, el atún y la sardina debido a los grandes volúmenes en que son extraídos (SEMARNAP, 2000). Sin embargo, existe una variedad de organismos cuya importancia comercial es elevada debido a que su consumo es extendido y/o su carne es muy preciada, no obstante que son capturados en volúmenes mucho menores. Este es el caso de los robalos.

1.1.1 La pesquería del robalo en México

La pesca del robalo se lleva a cabo en todos los estados costeros de la República Mexicana a excepción de Baja California Norte. La importancia económica que la pesca del robalo tiene en los distintos estados de la república varía de un estado a otro

los últimos 10 años entre la posición 34 y la 36 en cuanto a peso desembarcado pero el valor comercial ocupó un lugar mucho más destacado estando entre el quinto y el noveno sitio (SEMARNAP, 2000), pues su carne se cotiza a precios altos en el mercado nacional.

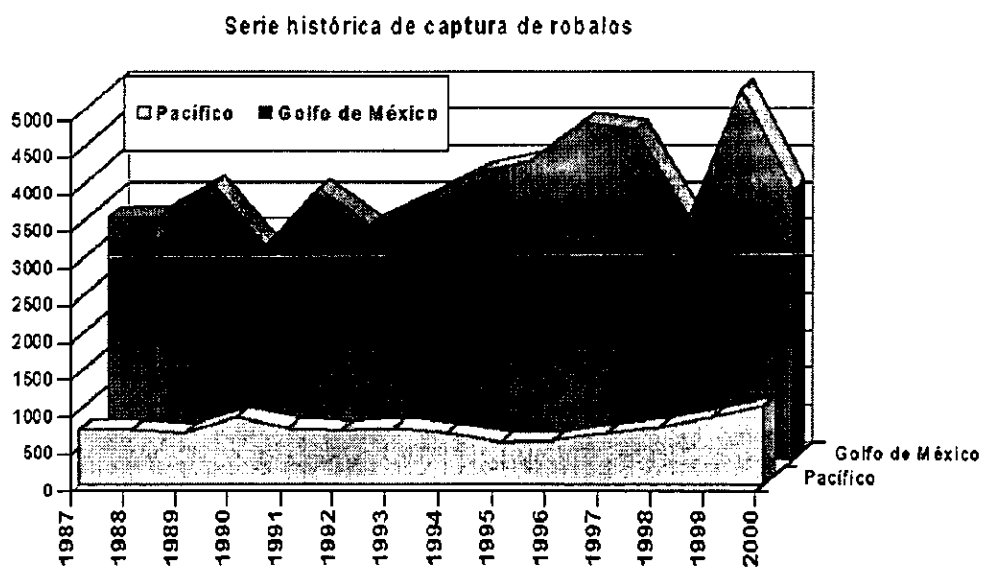


Fig. 1.1 Producción nacional en peso vivo por litoral de 1987 a 2000 (SEMARNAP, 2000).

En el Golfo de México la producción es entre seis y siete veces mayor que en el Pacífico (figura 1.1). En este último los mayores volúmenes son pescados en los estados de Sinaloa, Nayarit, Colima, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, aunque la producción de cada estado reporta variaciones considerables de un año a otro. La producción anual en estos estados se ha encontrado entre las 40 y las 360 toneladas de peso vivo por estado, cuya suma total está entre 500 y 1000 toneladas anuales producidas durante los últimos 10 años en toda la costa occidental (SEMARNAP, 2000; figura 1.2). Estas diferencias se deben a la magnitud del esfuerzo de pesca y a la abundancia del recurso. Esta última, a su vez depende de la interacción entre las poblaciones de organismos y los factores biológicos y físicos del ambiente (Allendorf *et al.*, 1987).

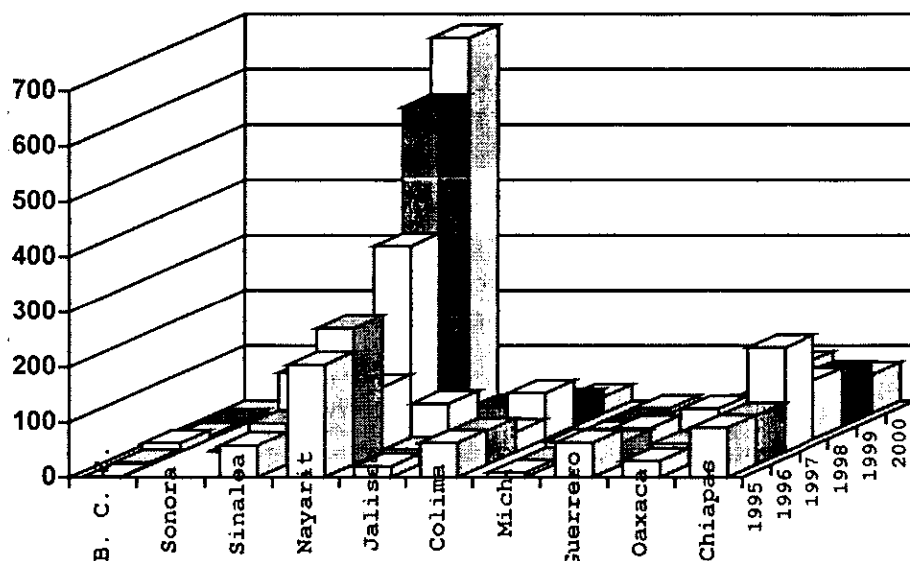


Fig. 1.2 Producción de robalos por entidad del litoral del Pacífico de 1995 a 2000 en toneladas de peso vivo (SEMARNAP, 2000).

1.1.2 Factores que afectan a las poblaciones de robalos

Entre los principales factores físicos del ambiente que afectan a los robalos los más importante probablemente son la temperatura y la salinidad (Muhlía Melo *et al.*, 1995).

Existen además factores biológicos intrínsecos a dichas poblaciones que no dependen del entorno en el que se encuentran los organismos de una población, pero cuya interacción con el medio determina la abundancia del recurso, es decir, el tamaño de sus poblaciones (Smith, 1996). La fertilidad, la estructura de sexos, la estructura de edades, el tamaño total de la población, la tasa

de reclutamiento, etc. son parámetros demográficos cuya magnitud, moldeada por los factores externos ambientales y biológicos, se reflejan en la abundancia o escasez de un organismo (Smith, 1996). Adicionalmente existen, entre los factores biológicos intrínsecos de la población aquellos de tipo genético.

1.1.3 Genética y pesca

Tanto los robalos como en las demás especies marinas sometidas a una extensiva y constante explotación corren el riesgo de disminuir el tamaño de sus poblaciones hasta niveles que ponen en riesgo la preservación de la población, de la especie, de la pesquería y finalmente el equilibrio en las relaciones tróficas del ecosistema (Cushing, 1980). Existe además un riesgo menos evidente, pero no por ello menos trascendente cuando las especies tienden a ser sobreexplotadas: la pérdida de su variación genética. Los recursos genéticos de una población son importantes para su preservación y por ello deben considerarse cuando un recurso pesquero se encuentra en riesgo (Smith, 1996). Cuando tales aspectos no se toman en cuenta y un recurso se explota sin control, la pesquería de dicho recurso tarde o temprano sufrirá lo que se conoce como un “colapso”, es decir, la disminución drástica de dicho organismo para aquellos que lo pescan y su consecuente impacto económico. Esto no significa que la especie o la población haya desaparecido, pero sí que su abundancia ha disminuido en tal proporción que la relación entre el esfuerzo de pesca y el volumen extraído, ya no hace redituable su pesca, sin mencionar el importante impacto ecológico que tal evento conlleve y la posibilidad de que realmente dicha población desaparezca debido a otros factores como la posible presencia de especies competidoras o depredadores naturales (Cushing, 1980). Para evitar esto, es importante contar con la información adecuada acerca de la biología del organismo y con datos precisos que nos den idea de la situación de las poblaciones marinas explotadas. Los indicadores poblacionales que deben tomarse en cuenta incluyen tanto a los de índole demográfica como genética. La parte genética obtiene indicadores o estimadores de variabilidad genética, subdivisión poblacional (genética), flujo génico, etc. Aunque es imprescindible contar con información de ambos tipos, los aspectos genéticos son un rubro que no se ha tomado en cuenta en los programas de administración pesquera, sino hasta muy recientemente.

1.1.4 Variación genética

El primer parámetro importante que debe estimarse en un estudio genético es la variabilidad genética. Esta es consecuencia de la acción de fuerzas evolutivas que moldean el perfil genético de la población (Hedrick, 2000). Dichas fuerzas evolutivas pueden actuar de maneras muy diversas pero todas son variantes o combinaciones de cuatro fuerzas fundamentales: la mutación, la deriva génica, la selección natural y la migración (Ayala y Kiger, 1989). La mutación es una fuerza que a

nivel poblacional resulta poco importante, debido a que las tasas de mutación promedio de los vertebrados son extraordinariamente lentas (Hedrick, 2000; Ayala y Kiger, 1989). La deriva génica representa todos aquellos cambios en las frecuencias de las variantes alélicas de una población que sean debidas al azar mientras que la selección actúa básicamente eliminando o favoreciendo aquellas variantes genéticas (y por lo tanto hereditarias) que doten a los individuos portadores de alguna característica cuya presencia se refleja en su capacidad reproductiva (Ayala y Kiger, 1989). Finalmente, los cambios genéticos debidos a la migración, suceden cuando el intercambio de organismos reproductivos entre poblaciones lleva a la introducción de variantes nuevas en poblaciones que no las tenían y/o a la modificación de las frecuencias de las variantes existentes (Hedrick, 2000; Ayala y Kiger, 1989).

1.1.5 Estudios genéticos poblacionales

Las principales tópicos que involucran los estudios de genética en pesquerías son aspectos poblacionales, acuicultura y de taxonomía/sistemática (Ward y Grewe, 1994). El primer apartado utiliza el análisis de marcadores genéticos para enfocarse en cinco problemas principales (Thorpe *et al.*, 2000):

1. Discernimiento de la estructura poblacional;
2. Identificación de unidades reproductivas discretas (“stocks”) y unidades para conservación;
3. Análisis de poblaciones mixtas;
4. Efectos genéticos en parámetros relevantes como crecimiento, supervivencia, resistencia a enfermedades o a condiciones ambientales, etc.;
5. Desarrollo de líneas genéticas para entrecruzamiento cautivo;

Dichos tópicos no son excluyentes ni independientes. De hecho el estudio de uno de ellos, sobre todo de los tres primeros, regularmente involucra o lleva implícito el análisis de otros. Pero el objetivo principal que han tratado los estudios genéticos es la identificación de “stocks”, es decir “unidades reproductivas con integridad espacial y temporal” (Ward, 2000; Carvalho y Hauser, 1994).

La presencia de diferentes stocks en una zona de explotación hace necesario identificarlos toda vez que cada uno representa una entidad discreta con parámetros biológicos propios como el crecimiento, abundancia, fecundación y diversidad genética entre otros (Carvalho y Hauser, 1994). Por lo tanto la administración de la pesquería debe ajustar las medidas de regulación de manera adecuada a cada stock si lo que se pretende no es solamente preservar cada una de estas unidades sino a su potencial de repoblación que depende de factores como abundancia, fecundidad y adaptabilidad, mismos que a su vez dependen directamente de la variación genética, (Smith, 1996). Esta estructura genética y sus causas deben ser objeto de especial análisis para determinar los

orígenes y consecuencias de dicha subdivisión. A su vez ello hace necesario hacer estimaciones sobre la intensidad del flujo génico entre las poblaciones, pues la ausencia de flujo génico implica un aislamiento de las poblaciones lo que generalmente se traduce en divergencia poblacional. De manera recíproca la existencia de flujo génico entre las poblaciones sirve como factor homogeneizador de las frecuencias alélicas.

En el caso de los robalos el conocimiento de su variabilidad genética y su estructura poblacional serían herramientas valiosas para una futura reglamentación del recurso pues lo preciado de su carne es motivo de una incesante explotación pues, en todos los casos en los que se presente oportunidad de pescarlo o, si aparecen en redes destinadas a la pesca de otro recurso, éste se aprovecha por su alto precio (prácticamente toda la pesca del robalo se lleva a cabo de manera artesanal; Muhlia Melo *et al.*, 1995).

Otra posible aplicación de los estudios genéticos sobre los robalos es la acuicultura. En Estados Unidos y Sudamérica, particularmente en Brasil, se llevaron a cabo cultivos de robalos con buenos rendimientos económicos por el alto precio de la carne de robalo (Tolley y Peebles, 1998; Pereira *et al.*, 1997; Nomura, 1985). La información genética es una herramienta importante para la acuicultura ya que el conocimiento de los niveles de variabilidad y de la hipotética presencia de estructura genética permitiría contar con una referencia a la cuál recurrir, en caso de ser necesario, para la introducción de variabilidad “fresca” a fin de evitar el empobrecimiento del acervo genético del cultivo previniendo fenómenos como la endogamia y ofreciendo también la ventaja de relajar la presión de pesca ejercida sobre las poblaciones naturales permitiendo, así, su recuperación, que probablemente sea impedida por la explotación intensiva.

Es necesario que el conocimiento obtenido se integre en políticas eficientes de administración de la pesquería. En México no existe ningún tipo de reglamentación referente a la pesca del robalo ni tampoco existen datos acerca de los volúmenes de captura correspondientes a las distintas especies. En ocasiones ni siquiera se tiene reconocida en la bibliografía pesquera la presencia de algunas de ellas.

Por ello en este trabajo se pretende profundizar algunos aspectos genéticos en poblaciones de tres de las 11 especies de robalos que se encuentran en aguas mexicanas a fin de ampliar y enriquecer el marco teórico que la actividad pesquera de nuestro país requiere para hacer un mejor uso de un importante recurso natural de México.

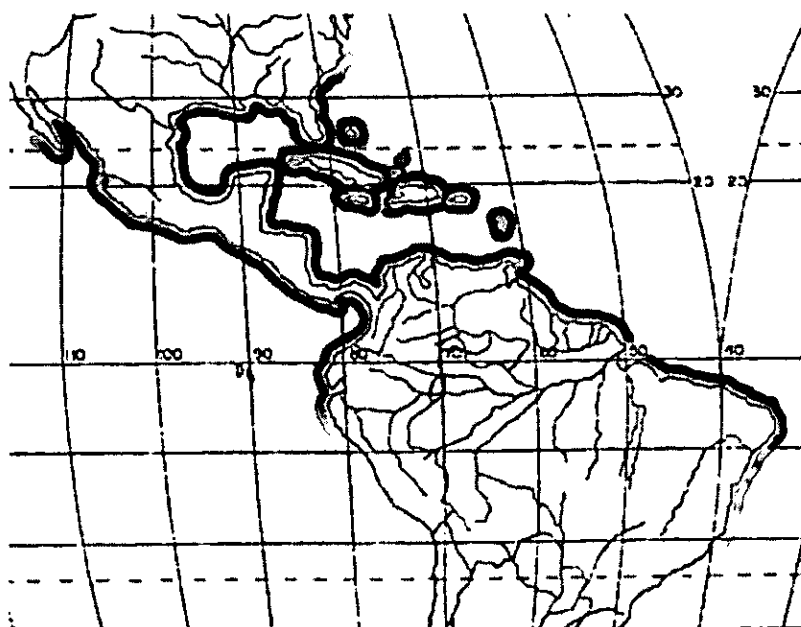


Fig. 1.3 Distribución de los robalos en el continente (Muhlia Melo et al., 1995).

De las 12 especies actualmente reconocidas de robalos (*Centropomus spp.*), seis se encuentran en las costas del Atlántico y seis en costas del Pacífico (figura 1.3). 11 de las 12 especies se encuentran en aguas mexicanas: seis en las costas del Golfo de México y del Mar Caribe (*Centropomus undecimalis*, *C. ensiferus*, *C. mexicanus*, *C. parallelus*, *C. poeyi* y *C. pectinatus*) y cinco en el Pacífico (*C. viridis*, *C. nigrescens*, *C. medius*, *C. robalito* y *C. armatus*), (Rivas, 1986). Algunas de estas especies mantienen entre sí una similitud morfológica muy grande (Tringali *et al.*, 1999; Rivas, 1986). Dicho parecido en tamaño y morfología obedece también a una cercanía filogenética establecida entre

De esta manera, para cada especie del Pacífico existe por lo menos una especie cercanamente emparentada y sumamente parecida a ella ya sea en la misma costa o en la del Atlántico (Donaldson y Wilson, 1999), de manera que los principales grupos taxonómicos identificados incluyen a especies de ambas costas (Donaldson y Wilson, 1999; Tringali *et al.*, 1999; Greenwood, 1976; figura 1.4): *C. viridis* y *C. nigrescens* (del Pacífico) constituyen junto con *C. undecimalis* y *C. poeyi* (del Atlántico) el llamado grupo *undecimalis* con gran semejanza en la morfología y en el nicho ecológico (Tringali *et al.*, 1999); *C. medius* (del Pacífico) y *C. pectinatus* (del Atlántico) son tan similares que resulta prácticamente imposible diferenciar organismos de estas especies en base a su morfología si se desconoce la costa de la que provienen (Tringali *et al.*, 1999; Rivas, 1986). Las especies más pequeñas *C. robalito* y *C. armatus* mantienen una relación filogenética estrecha con *C. unionensis* (los tres del Pacífico) y *C. ensiferus* (Atlántico) cuyas dimensiones son también similares. Por su parte *C. mexicanus* y *C. parallelus* (ambos del Atlántico) adicionan sus similitudes a su cercanía

filogenética. Estas relaciones no fueron comprendidas a fondo sino hasta después de la realización de numerosos trabajos. El último de ellos, hecho por Tringali y colaboradores (1999) utiliza técnicas moleculares como las isoenzimas y el DNA mitocondrial para obtener un resultado consistente con los trabajos previos que incluían análisis osteológicos (Greenwood, 1976; Fraser, 1968) morfométricos (Greenwood, 1976; Rivas, 1986) y merísticos (Chávez, 1963; Rivas, 1986) entre otros.

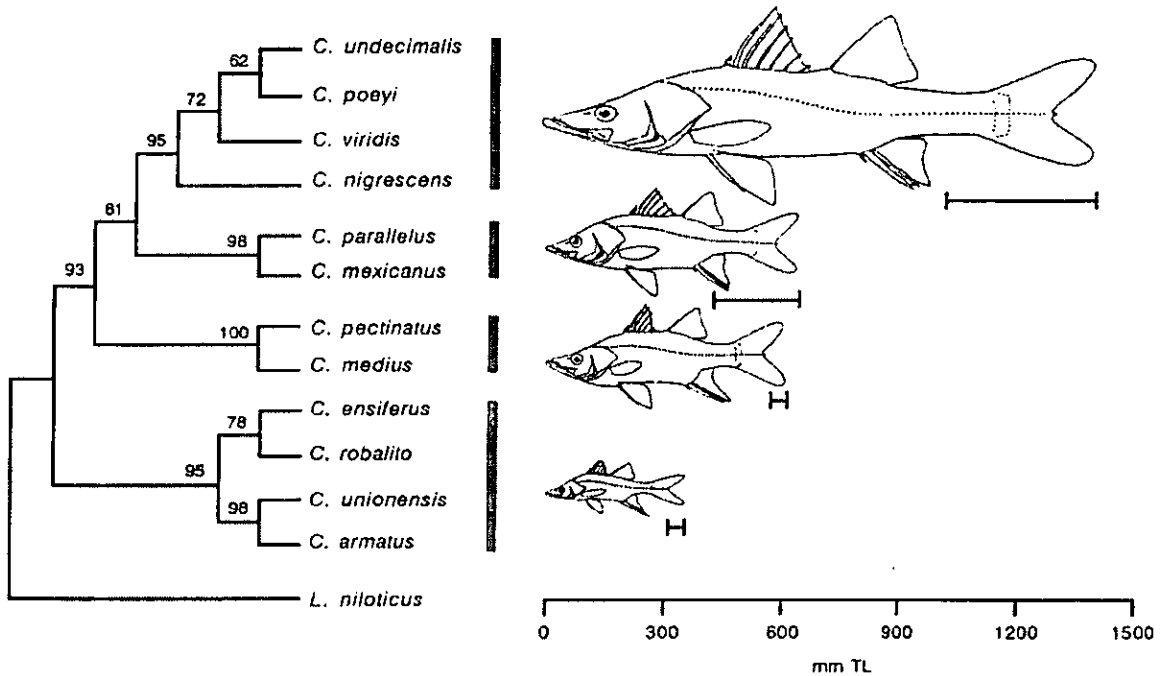
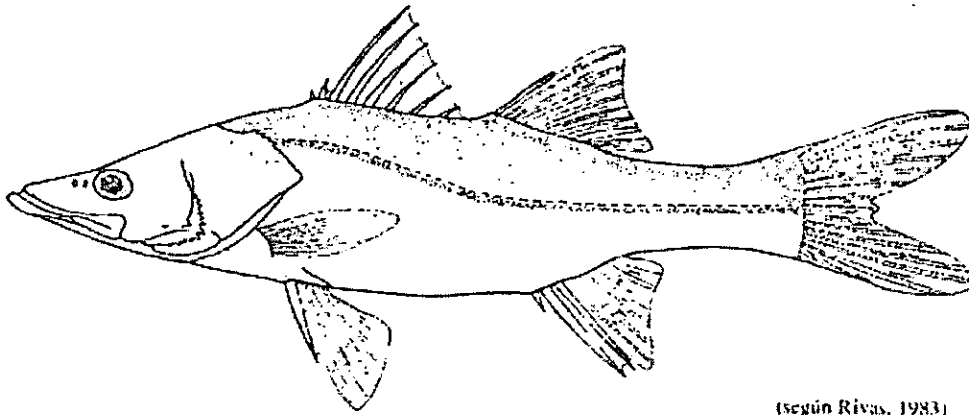


Figura 1.4 Árbol de máxima parsimonia que presenta los principales clados que agrupan a las doce especies de robalos del género *Centropomus*, así como la morfología general y tamaño relativo (Tomado de Tringali *et al.*, 1999).

El presente trabajo se enfoca al estudio de tres especies de robalos del Pacífico mexicano: uno de cada uno de los tres grupos taxonómicos del género presentes en el Pacífico: *C. viridis* (grupo *undecimalis*); *C. medius* (emparentado con *C. pectinatus*) y *C. robalito* (grupo *ensiferus-robalito*).

C. viridis de acuerdo a la descripción de Rivas (1986) es un pez de cuerpo robusto y grande, de hasta 120 cm o más (tamaño comercial aproximado de 60 cm); con un cuerpo alargado de poca altura (FAO, 1995; figura 1.5).



(según Rivas, 1983)

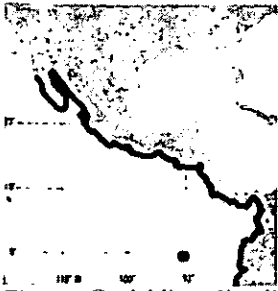
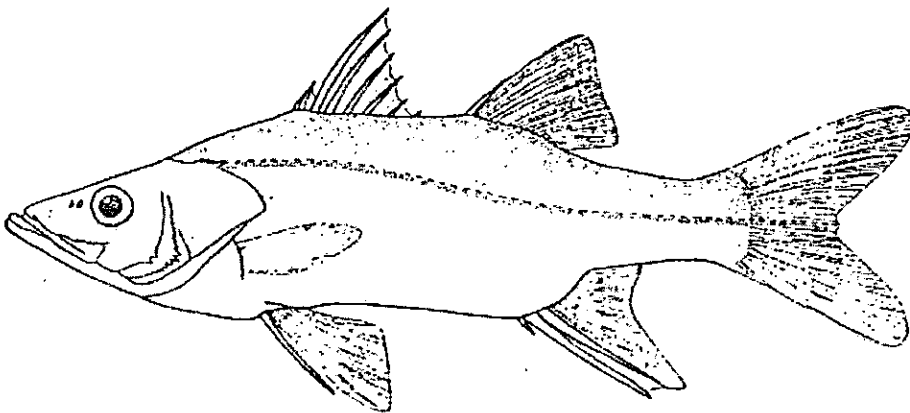


Fig. 1.5 *C. viridis* y distribución (Rivas, 1983).

C. medius es un pez de tamaño medio (40 cm). Alargado y ligeramente comprimido en el dorso pero no lateralmente; dorso elevado y vientre recto. El tamaño comercial es a partir de los 25 cm (FAO, 1995; figura 1.6).



(según Rivas, 1983)

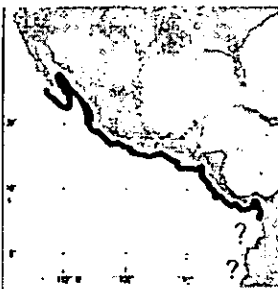
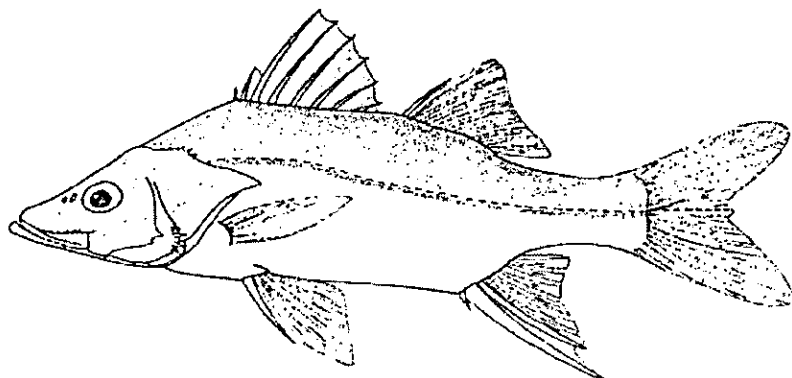


Fig. 1.6 *C. medius* y distribución (Rivas, 1983).

C. robalito es el más pequeño con un tamaño máximo de cerca de 30 cm. Tiene el cuerpo alargado y se le comercializa en tamaños de 20 a 25 cm (FAO, 1995; figura 1.7).



(según Laettner, 1962 en Rivas, 1986)

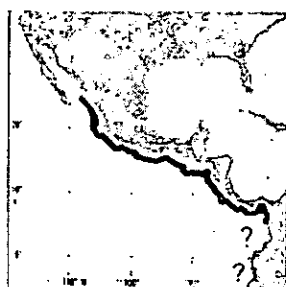


Fig. 1.7 *C. robalito* y distribución (Rivas, 1983).

1.2.2 Distribución y habitat

Todos los robalos viven en aguas tropicales y subtropicales del continente americano: seis en las costas del Pacífico y seis en las del Atlántico. Ninguna especie se encuentra en ambas costas. Los del Pacífico se distribuyen desde las costas de Perú hasta Baja California Sur y Sonora (Rivas, 1986). Dependiendo de la especie dicha distribución varía hacia el norte. *C. viridis* y *C. medius* pueden ser encontrados hasta las costas de Sonora a la altura de Bahía Yávaros o incluso más al norte. Pueden además ser encontrados en costas de Baja California Sur extendiendo su distribución hasta Bahía Magdalena en la costa occidental y hasta Sta. Rosalía en el Golfo de California. *C. robalito* sin embargo alcanza su punto de distribución más nórdico en las costas de Sinaloa y no se encuentra en costas de Baja California (Muhlía Melo *et al.*, 1995).

Los robalos son peces demersales y se les puede encontrar en aguas marinas o salobres como estuarios lagunas costeras y ríos, son eurihalinos y semicatádromos (Muhlía Melo *et al.*, 1995). Chung (1981) los considera especies osmoconformistas o anfídomas. Se encuentran en zonas con amplia plataforma continental con aguas templadas a cálidas, y con abundancia de cuerpos de agua dulce o salobre en contacto con el mar. En función de que las especies más emparentadas

comparten casi toda la morfología y el nicho ecológico, algunos aspectos reproductivos estudiados en unas pocas especies podrían ser igualmente aplicables a las especies que se le parecen.

Aunque los robalos podrían ser considerados como estuarinos, su habitat es mucho más amplio pues los adultos pueden ser encontrados tanto en ambientes completamente dulceacuícolas en el lecho de los ríos a muchos kilómetros de su desembocadura (Fuentes Castellanos, 1973, menciona que *C. poeyi* se llega a pescar en el Río San Pedro a 200 km de la costa) hasta el mar abierto. Sin embargo en aquellas regiones en donde los cuerpos de agua dulce o salobre disponible son escasos, los robalos son poco abundantes e incluso raros.

Las especies que viven en costas de Baja California Sur son los únicos que no penetran a cuerpos de agua dulce (cuya presencia es rara y ocasional) pero sí en los cuerpos lagunares costeros (Muhlía Melo *et al.*, 1995).

1.2.3 Temperatura y salinidad

Los factores más importantes que determinan la distribución de los robalos son la temperatura y la salinidad (Muhlía Melo *et al.*, 1995). Muhlía Melo y colaboradores (1995) mencionan algunos casos históricos en los que los descensos súbitos de la temperatura han significado mortandades masivas para los robalos en costas de Florida y Tamaulipas. Por otro lado, de las 12 especies reconocidas de robalos, todas se encuentran en aguas tropicales pero sólo cuatro habitan también aguas subtropicales y de ellas sólo 2 llegan a soportar temperaturas de 17 a 20° C durante la época fría del año (Muhlía Melo *et al.*, 1995). Con base en el tamaño y en la distribución de especies como *C. viridis* y *C. medius*, podemos suponer que las dos primeras tienen una mayor tolerancia a las temperaturas bajas que las especies pequeñas como *C. robalito*. No obstante, los únicos estudios que se han hecho se refieren a *C. undecimalis* y muestran que, cuando la temperatura disminuye entre 20 y 17° C su actividad disminuye, la mortandad de robalos empieza a los 16 a 13° C y entre 14 y 11° C los sobrevivientes entran en letargo. Entre 10 y 9° C mueren todos (Shafland y Foote, 1983; Howells *et al.*, 1990). En otro estudio, Chung (1981) concluyó que la temperatura óptima para *C. undecimalis*, y por extrapolación para los demás robalos es de 25 a 29° C. Un indicio sobre el efecto que la temperatura tiene sobre las poblaciones de robalos (y presumiblemente sobre su abundancia), puede ser la captura registrada en el año 1982, año en que el fenómeno conocido como “El Niño” tuvo una magnitud sin precedentes en aguas mexicanas, provocando anomalías en las temperaturas del mar de hasta 5° C en las costas de estados como Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, registrando de 25 a 30° C (contra los 23-27° C normales; NOAA, 1999), coincidiendo así con el intervalo de temperaturas consideradas como óptimas para el desarrollo de los robalos (Howells *et al.*, 1990). En dicho año se registró un volumen inusualmente elevado de robalos capturados en el litoral del Pacífico al registrarse 1,560 toneladas, cantidad que representa entre el

doble y el triple de lo producido en años precedentes y posteriores, mientras que el número de embarcaciones menores (con las que se pescan los robalos) registradas (esfuerzo de pesca) fue menor en ese año que en 1980 (SEMARNAP, 2000), por lo que el dato anterior puede interpretarse como el resultado de una extraordinaria abundancia de robalos en las costas del Pacífico mexicano.

Los intervalos de salinidad en los que pueden ser encontrados los robalos son muy amplios y van desde salinidades marinas (de hasta 58.29 p.p.m. registrados para *C. undecimalis*) hasta aguas totalmente dulces (0.07 p.p.m.). El agua salada es indispensable para el desarrollo de los huevos y larvas mientras que las aguas salobres a dulces son importantes para el desarrollo óptimo de los adultos (Muhlia Melo *et al.*, 1995). La combinación de temperatura y salinidad pueden determinar la abundancia e incluso presencia de robalos en un lugar determinado. Por otro lado, el efecto que uno de estos factores tenga sobre los organismos también depende del otro y de un conjunto adicional de variables ambientales y biológicas. En este aspecto el único factor físico estudiado es la mínima concentración de oxígeno que soporta *C. undecimalis*: 3 mL/L. (Muhlia Melo *et al.*, 1995). La vulnerabilidad al frío parece acrecentarse en aguas de baja salinidad. El hecho de que la distribución de las especies mayores del Pacífico no se prolongue más allá del norte de las costas de Baja California Sur y del norte de Sonora (Sinaloa en el caso de *C. robalito*) a pesar de la calidez de las aguas del golfo de California, se debe seguramente a la baja disponibilidad de cuerpos de agua dulce.

Uno de los factores que probablemente influyen en la preferencia de los robalos por las aguas dulces es la disponibilidad de alimento abundante en los sistemas lagunares y estuarinos así como en los ríos debido a la elevada cantidad de materia orgánica que producen y/o transportan.

La abundancia del alimento también puede ser un factor que determine la abundancia de los robalos en una determinada localidad pues permite el desarrollo óptimo de los robalos.

1.2.4 Biología

Los robalos son organismos carnívoros que se alimentan de crustáceos y peces más pequeños que ellos. El comportamiento alimenticio de *C. undecimalis* fue estudiado por Bórquez y Ronzani (1998) quienes encontraron algunas sustancias atrayentes. En los estudios de contenidos estomacales de las especies *C. undecimalis*, *C. poeyi*, *C. pectinatus* y *C. parallelus* hechos por Chávez (1963), Fuentes Castellanos (1973) y Jiménez Valdez (1984), se encontró gran variedad de peces sobresaliendo *Diapterus sp.*, *Dormitator maculatus*, Engraulidos, Eleótridos, Leognátidos, Pecílidos y Góbidos entre muchos otros y crustáceos Peneidos (*Penaeus aztecus* y otros) y jaibas (*Callinectes spp.*), además de proporciones menores de otros crustáceos, moluscos, insectos y restos vegetales. No existen datos semejantes sobre las especies del Pacífico pero, con base en observaciones personales y en la información anterior, podemos afirmar que muy probablemente la

dieta de los robalos de la costa del Pacífico se componga principalmente de peces Engraúlidos, *Diapterus spp.*, mojarras pequeñas y otros peces, y de crustáceos Peneidos (como *Penaeus vannamei* y *P. californiensis*) presentes todos ellos en abundancia en los sistemas lagunares, ríos y estuarios en donde se alimentan y desarrollan los robalos.

La reproducción de los robalos es un aspecto que necesita de estudios más profundos. Anteriormente se asumía que eran organismos gonocóricos (dióicos) durante toda su vida (Muhlia Melo *et al.*, 1995; Chávez, 1963). Sin embargo, Roberts y colaboradores (1999) los consideran hermafroditas protándricos. *Centropomus undecimalis* desova en abril y mayo en las costas de Florida (Taylor *et al.*, 1998); en el Golfo de México extiende su periodo de desove hasta septiembre y octubre presentándose con mayor intensidad en mayo y junio. *C. pectinatus* tiene un periodo de desove de mayo a noviembre (Chávez, 1963). No existen datos sobre las especies menores ni sobre las del Pacífico pero se puede suponer que similarmente sus periodos reproductivos inician en abril a junio, tienen un apogeo principalmente en verano y probablemente se prolonguen algunos hasta los meses de otoño. Los organismos de *C. undecimalis* alcanzan la madurez sexual entre los 340 y 390 mm de longitud (Chávez, 1963), aunque Iversen y Hale (1992) incrementaron el intervalo hasta 400 a 500 mm para los robalos de Florida. Para *C. viridis* (del Pacífico) este intervalo podría ser muy parecido aunque no existen reportes al respecto. Lo mismo sucede con *C. medius* cuya contraparte del Golfo, *C. pectinatus* alcanza su madurez sexual entre los 260 y 300 mm. Existen datos sobre fecundidad de *C. undecimalis*, *C. parallelus* y *C. poeyi* que estiman entre unos cientos de miles a un poco más de un par de millones la cantidad de huevecillos por hembra (Chávez, 1963; Iversen y Hale, 1992).

Especies del Golfo como *C. undecimalis*, *C. poeyi*, *C. parallelus* y *C. pectinatus* migran una o dos veces al año de los cuerpos de agua continentales al mar con el fin de desovar (Chávez, 1963; Fuentes Castellanos, 1973). Sus huevos son pelágicos y flotan libremente en la columna de agua cercana a la superficie. El huevo de *C. undecimalis* mide alrededor de 0.7 mm de diámetro y durante el periodo posterior a la eclosión, cuando las larvas apenas miden entre 1.4 y 1.5 mm y hasta que alcanzan un tamaño de unos 15 mm permanecen siendo pelágicos (Johnson, 1984). Green (1993) encontró que los prejuveniles de *C. robalito* aprovechan la lengua salina que empuja la marea para penetrar en la laguna Hiuzache-Caimanero en Sinaloa. Dicha información podría probablemente ser extrapolada a las demás especies dado que los prejuveniles y juveniles de otras especies como *C. poeyi*, *C. parallelus*, *C. pectinatus* y *C. undecimalis* han sido encontrados en abundancia en los cuerpos de agua costeros del Golfo de México un poco después de iniciada la temporada de desove.

1.2.5 Poblaciones

Aunque no existen datos reportados es posible inferir que existen diferencias y fluctuaciones sustanciales en la abundancia de las especies del Pacífico y las del Atlántico. Estas diferencias pueden asumirse por varias razones. La costa del Pacífico tiene una producción global de robalos de alrededor de un sexto a un séptimo de lo que produce el Golfo y Caribe donde casi toda la producción robalera se concentra en el Estado de Veracruz (SEMARNAP, 2000). Chávez (1963) reporta a *C. poeyi* y *C. parallelus* como las especies más abundantes del Golfo. Actualmente *C. undecimalis* junto con *C. mexicanus* son aparentemente las más abundantes siendo las otras difíciles de capturar en cantidades importantes. En el Pacífico en cambio la especie más abundante (excepto al norte de Mazatlán) es *C. robalito*, encontrándose en una abundancia mucho menor *C. viridis* y *C. nigrescens*. Las afirmaciones anteriores se basan en las colectas realizadas por el autor; en ellas las proporciones de individuos de *C. viridis* y *C. nigrescens* obtenidos en una localidad son tales que el número de organismos de la especie más abundante en todos los casos fue cinco o más veces mayor que los colectados para la otra especie en una localidad determinada. En todos los casos la disponibilidad de *C. nigrescens* y *C. viridis* fue mucho menor que la de *C. robalito*. *C. medius* tiene una abundancia intermedia. *C. armatus* es tan raro que ni siquiera ha podido ser colectado para fines científicos en los últimos años de acuerdo a datos directamente obtenidos con personal del ICMYL (UNAM) y del CIAD de Mazatlán. En el golfo la mayor producción (y presumiblemente el grueso de la población) se concentra en Veracruz; mientras que en el Pacífico los mayores niveles de producción son reportados para los estados de Nayarit, Sinaloa, Chiapas y en menor grado por Guerrero y Oaxaca. La presencia de aguas cálidas, abundancia de ríos y sistemas lagunares ricos y complejos muy probablemente sean las causas de la elevada producción de los estados de Sinaloa, Nayarit y Chiapas, regiones que muy probablemente también representan núcleos poblacionales importantes. Respecto a otras variables demográficas, Chávez (1963) reporta una proporción de sexos consistente en 43.4% de hembras y 56.6% de machos en *C. undecimalis*; alrededor de 41% de machos y 58% de hembras en *C. parallelus* y *C. poeyi* y 63.2% hembras y 36% de machos en *C. pectinatus*. La confiabilidad de tales cifras probablemente sea baja por ser hermafroditas protándricos y en virtud de que se carecen de mayores datos sobre la época del año en que se obtuvieron estas proporciones y en distintas épocas del año.

Adicionalmente la abundancia de especies en ciertas regiones ha sufrido fluctuaciones importantes en los últimos años; Chávez (1963) reporta que en el puerto de Alvarado la abundancia de *C. parallelus*, *C. pectinatus* y *C. poeyi* es mayor que la de *C. undecimalis* (calificándolas como muy abundantes), mientras que en la actualidad dichas especies son difíciles de encontrar en dicha región, no así *C. undecimalis*. En el caso de los robalos del Pacífico el único que aparentemente se

mantiene abundante es *C. robalito*, mientras que *C. viridis* y *C. nigrescens* mantienen una aparente relación de competencia donde la abundancia de uno se asocia a la escasez del otro, presentando fluctuaciones importantes en tiempo y espacio.

1.2.6 Genética de poblaciones

Los estudios genéticos sobre robalos son limitados y están enfocados principalmente en la filogenia del género. Donaldson y Wilson (1999) analizaron la región control del DNA mitocondrial para calibrar tasas de divergencia considerando el evento de especiación alopátrica que originara los grupos filogenéticos intragenéricos de robalos que ya mencionamos como consecuencia del surgimiento del Istmo de Panamá (hace 3.5 millones de años). Tringali y Bert (1996), utilizando isoenzimas y RFLP's, informan que *Centropomus undecimalis* presenta subdivisión significativa y niveles de diversidad genética moderados en las poblaciones de Florida y el Caribe. Los mismos autores reportan (1999) niveles moderados de variación aloenzimática y de secuencias mitocondriales para el resto de las especies de robalos, encontrando valores de heterocigosis esperadas totales menores a 0.074.

Los estudios de genética de poblaciones han utilizado diversas herramientas teóricas y técnicas para poder estimar la variación de las poblaciones naturales y la divergencia entre éstas. Los estudios citogenéticos precedieron la implementación de electroforesis de proteínas. La técnica de isoenzimas tuvo un auge enorme desde su aparición debido a una serie de ventajas que ofrecía sobre otras técnicas usadas entonces (Moritz y Hillis, 1996). Entre estas ventajas se cuenta la relativa sencillez de los protocolos y la capacidad de discernir genotipos asignables a loci y alelos individuales, así como la codominancia del marcador (Pasteur *et al.*, 1988; Moritz y Hillis, 1996), característica muy importante que no poseían algunas de las técnicas previamente usadas. Posteriormente la aparición de marcadores que involucran la manipulación de DNA, han venido teniendo un gran auge en los últimos años, debido a la capacidad que tienen de estimar la variación presente con mayor precisión. Dentro de estas técnicas resaltan aquellas que involucran a la reacción en cadena de la polimerasa o PCR por su sencillez y la diminuta cantidad de tejido que requieren. Técnicas como AFLP's (Amplified Fragments Length Polimorfism), RAPD's (Randomly Amplified Polymorphic DNAs), VNTR's (Variable Number of Tandem Repeats), PCR-RFLP's (Polimerase Chain Reaction-Restriction Fragments Length Polimorfism) aprovechan esta ventaja para detectar variación entre las poblaciones. En particular, la técnica de RAPD's (DNA polimórfico aleatoriamente tante de bandas que son interpretadas como presuntos loci (Lynch y Milligan, 1994). Ello resulta en una mayor significancia estadística, al contar con un número mayor de loci muestreados por organismo. Además, dichos loci son anónimos y tomados al azar de todo el genoma del individuo lo que significa un muestreo más

representativo que el análisis de genes particulares que podrían estar sujetos a alguna fuerza evolutiva como la selección (Dowling *et al.*, 1996; Lynch y Milligan, 1994). Aunque los RAPD's son marcadores dominantes (lo que impide distinguir individuos heterocigotos de los homocigos dominantes), esta técnica ha dado resultados buenos y es aplicable a prácticamente cualquier grupo de organismos (Lynch y Milligan, 1994). La técnica de RAPD's es un método eficiente en peces ofreciendo suficiente variación intraespecífica para hacer estudios poblacionales (Dinesh *et al.*, 1993; Lynch y Milligan, 1994). La técnica consiste en la amplificación por PCR de fragmentos de DNA anónimos. Para ello se emplean oligonucleótidos iniciadores de tamaño pequeño y secuencia aleatoria de tal manera que se obtienen fragmentos de diferentes tamaños y cuya presencia o ausencia es tomada como indicativo de polimorfismo en un presunto locus.

El advenimiento de nuevas técnicas cuyas ventajas son una mayor sensibilidad para detectar variación y capacidad de analizar mayor número de loci que las técnicas tradicionales, ha originado un debate acerca de la aplicabilidad de técnicas convencionales. Sin embargo no existe aún una técnica que posea todas las ventajas. Por ello se considera que los mejores resultados son obtenidos con la combinación de técnicas distintas que complementen sus aspectos más ventajosos (Moritz y Hillis, 1996).

2.1.7 Características de las regiones muestreadas

En el Pacífico norte mexicano la distribución de las especies *C. viridis* y *C. medius* tiene su límite entre la bahía de Yávaros y Guaymas (Sonora), donde dichos organismos son escasos, probablemente debido a la escasa disponibilidad de cuerpos de agua dulce en la región (Muhlía Melo *et al.*, 1995). Hacia Sinaloa, la costa se caracteriza por tener una plataforma continental relativamente amplia y de leve pendiente, donde se presentan mayor cantidad de desembocaduras de ríos, además de sistemas lagunares extensos y complejos (prácticamente ausentes en Sonora), asociados a esteros, marismas y pantanos (Amezcuca Linares, 1996), como el sistema lagunar Huizache-Caimanero. Esta mayor disponibilidad de cuerpos de agua continental conectados al mar, y la presencia de temperaturas óptimas para los robalos (25 ° C promedio anual en Mazatlán; Amezcuca Linares, 1996), probablemente son causales de la mayor abundancia de robalos en la región pues la producción de dicho estado es considerable (SEMARNAP, 2000). Al sur de Sinaloa encontramos el complejo sistema lagunar de Nayarit en donde los sistemas Tecapan-Agua Brava, Mexcaltitlán y otras asociadas a esteros, marismas, pantanos y las vertientes de una mayor cantidad de ríos como Acajoneta, San Blasito, Rosa Morada, San Pedro y Santiago que afectan notablemente los procesos del litoral aportando sedimentos, materia orgánica y nutrientes (Amezcuca Linares, 1996). Aquí, donde la disposición de agua dulce es mayor aún que en Sinaloa, y las aguas son más cálidas, la abundancia y producción de robalos es muy alta (ver figura 1.2).

Adicionalmente, fenómenos como “el Niño” han tenido un impacto interesante en las temperaturas del agua, registrándose en algunos años (por ejemplo 1998) en la región de Nayarit temperaturas mayores que en el resto de la costa del Pacífico donde se encuentran robalos (NOAA, 1999). Los estados de Jalisco y Michoacán en general siempre han registrado una producción de robalos baja en relación con la extensión de su litoral. Dicha zona que en general es de baja producción de peces demersales debido a factores como la estrechez de la plataforma continental seguida por una abrupta pendiente, y la escasa disponibilidad de cuerpos de agua dulce que solamente incluyen a las desembocaduras de ríos y esteros, pues no existen prácticamente lagunas costeras, resultan en la poca abundancia de robalos en la zona. Por ello consideramos a ésta como una zona intermedia entre la población de las costas de Nayarit y las de los estados de Guerrero y Oaxaca donde las condiciones son un poco diferentes: la temperatura del agua en la costa y el continente es más cálida que las de los estados de Nayarit y Sinaloa (alrededor de 27.5 ° C en promedio anual; Amezcua Linares, 1996), además de que existen abundantes lagunas que cubren grandes extensiones y una considerable cantidad de ríos que desembocan en las lagunas o directamente al mar como: el Balsas, Ixtapa, San Jerónimo, Coyuquilla, San Luis, Tecpan, Atoyac, Coyuca, la Sabana, Papagayo y Omatepec, que, al igual que en la zona norte influyen significativamente en la dinámica costera, principalmente en lo que se refiere a temperatura, salinidad, y aporte de sedimentos y nutrientes (Amezcua Linares, 1996). La abundancia de robalos no alcanza los niveles que en Nayarit o Sinaloa, lo que se ve reflejado en una producción moderada (SEMARNAP, 2000).

2.1 Hipótesis

La característica de los robalos a permanecer y limitar sus migraciones en torno a aguas continentales limita su desplazamiento a través del mar, lo que probablemente implique una restricción importante al flujo génico entre las poblaciones de robalos. Dicha restricción podría haber permitido la divergencia genética poblacional por efecto de fuerzas evolutivas como la selección natural o la deriva génica pues las poblaciones de robalos continuamente sufren fluctuaciones importantes en su tamaño por causas naturales y por la pesca.

2.2 Objetivo General:

Evaluar el grado de variabilidad y diferenciación genética poblacional en robalos de las especies *Centropomus viridis*, *Centropomus medius* y *Centropomus robalito* de diferentes regiones del Pacífico mexicano mediante electroforesis de isoenzimas y de los fragmentos polimórficos de DNA amplificados aleatoriamente (RAPD's).

3. Métodos

3.1 Muestreo

3.1.1 Localidades muestreadas

Se llevaron a cabo colectas en distintas localidades de la costa del Pacífico agrupando a los organismos obtenidos en presuntas poblaciones (figura 3.1; tablas 3.1, 3.2 y 3.3) con base en los siguientes criterios:

1) Las procedentes del estado de Sonora y norte de Sinaloa donde los robalos presentes (*C. viridis* y *C. medius*) parecen poco abundantes, la temperatura continental es extrema y los cuerpos de agua dulce son escasos.

2) Las procedentes de la parte central y sur del estado de Sinaloa donde parecen ser mayores las poblaciones y los cuerpos de agua dulce o salobre son más abundantes, además de que las temperaturas continentales son mayores y por lo tanto las de los cuerpos de agua continentales.

3) Las procedentes de los sistemas lagunares de Nayarit donde parece haber condiciones de temperatura que permiten que los peces en algunas temporadas sean excepcionalmente abundantes.

4) Las procedentes de toda la costa al sur de Jalisco y Michoacán principalmente de los estados de Guerrero y Oaxaca donde el clima es menos extremo y las especies son abundantes.

5) En el caso de *C. robalito* además se consideraron como poblaciones separadas las provenientes de Acapulco-Laguna de tres palos (Guerrero) y Pto. Escondido (Oaxaca) debido a que la distancia entre localidades es mayor a 100 km. y el número de organismos colectados de dichas poblaciones fue mayor a 20 individuos.

2.2 Objetivo General:

Evaluar el grado de variabilidad y diferenciación genética poblacional en robalos de las especies *Centropomus viridis*, *Centropomus medius* y *Centropomus robalito* de diferentes regiones del Pacífico mexicano mediante electroforesis de isoenzimas y de los fragmentos polimórficos de DNA amplificados aleatoriamente (RAPD's).

3. Métodos

3.1 Muestreo

3.1.1 Localidades muestreadas

Se llevaron a cabo colectas en distintas localidades de la costa del Pacífico agrupando a los organismos obtenidos en presuntas poblaciones (figura 3.1; tablas 3.1, 3.2 y 3.3) con base en los siguientes criterios:

1) Las procedentes del estado de Sonora y norte de Sinaloa donde los robalos presentes (*C. viridis* y *C. medius*) parecen poco abundantes, la temperatura continental es extrema y los cuerpos de agua dulce son escasos.

2) Las procedentes de la parte central y sur del estado de Sinaloa donde parecen ser mayores las poblaciones y los cuerpos de agua dulce o salobre son más abundantes, además de que las temperaturas continentales son mayores y por lo tanto las de los cuerpos de agua continentales.

3) Las procedentes de los sistemas lagunares de Nayarit donde parece haber condiciones de temperatura que permiten que los peces en algunas temporadas sean excepcionalmente abundantes.

4) Las procedentes de toda la costa al sur de Jalisco y Michoacán principalmente de los estados de Guerrero y Oaxaca donde el clima es menos extremo y las especies son abundantes.

5) En el caso de *C. robalito* además se consideraron como poblaciones separadas las provenientes de Acapulco-Laguna de tres palos (Guerrero) y Pto. Escondido (Oaxaca) debido a que la distancia entre localidades es mayor a 100 km. y el número de organismos colectados de dichas poblaciones fue mayor a 20 individuos.

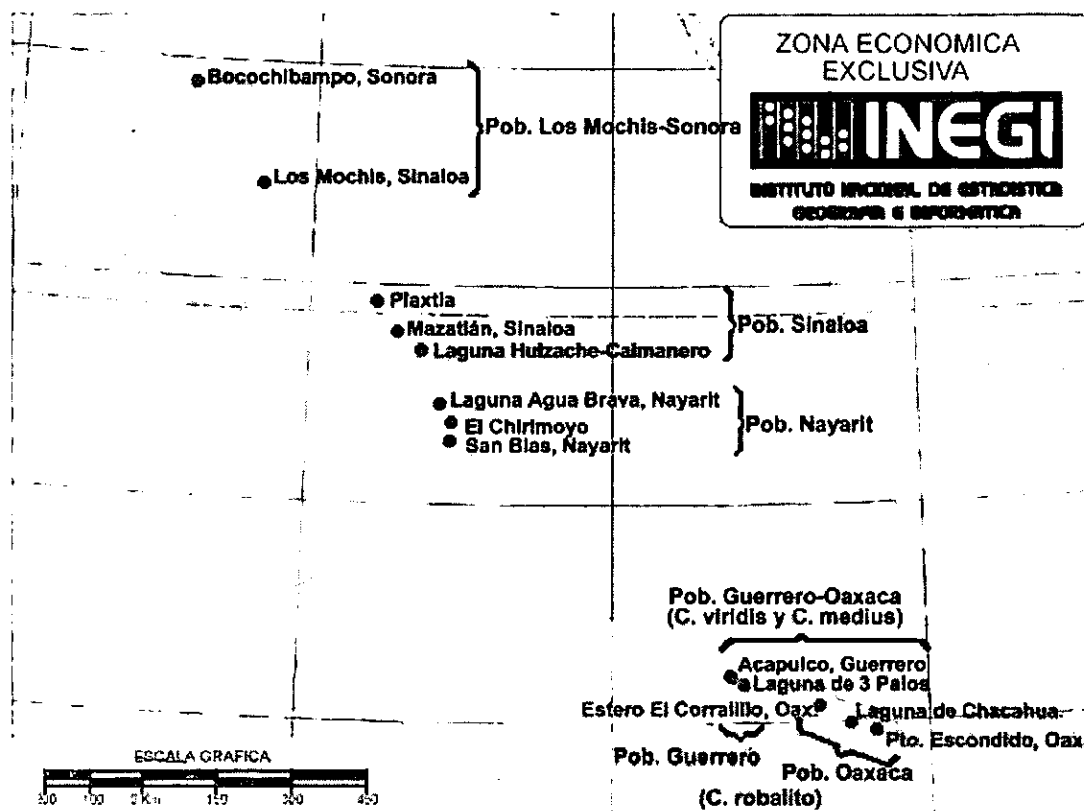


Fig. 3.1 Ubicación de las localidades muestreadas en las costas del Pacífico mexicano.

3.1.2 Colecta de tejido.

Los organismos fueron adquiridos directamente con las cooperativas de pescadores locales, en los mercados locales de pescado o con pescadores independientes. Además se incluyeron un total de 36 muestras de tejido donadas por el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) de Mazatlán adquiridas de colectas hechas por personal de dicho centro. Una vez identificados, pesados y medidos, los organismos fueron eviscerados y etiquetados. Se extrajo una porción de tejido muscular proveniente del tercio posterior del cuerpo. Dicha muestra inmediatamente fue almacenada en nitrógeno líquido para su preservación hasta el traslado al laboratorio en donde fue puesto en ultracongelación (a -70°C).

Tablas 3.1 Datos de muestreo de *C. viridis*.

Población	N pob.	Localidad	N	Fecha colecta
Guerreco-Oaxaca	30	Laguna de 3 Palos, Guerrero	5	03-oct-98
		Laguna de Chacahua, Oaxaca	18	02-jun-00
		Estero El Corralillo, Oaxaca	7	03-jun-00
Nayarit	23	San Blas, Nayarit	6	05-jul-99
		San Blas, Nayarit	2	02-oct-00
		Laguna Agua Brava, Nayarit*	1	19-ene-96
		El Chirimoyo, Nayarit	3	07-may-99
		Laguna Agua Brava, Nayarit	11	10-sep-99
Sinaloa	32	Mazatlán, Sinaloa	18	05-feb-98
		Mazatlán, Sinaloa	2	05-may-99
		El Yugo, Mazatlán, Sinaloa	6	06-may-99
		Mazatlán, Sinaloa	1	11-sep-99
		Boca de la Isla La Piedra, Mazatlán, Sinaloa*	5	07-oct-98
Los Mochis-Sonora	11	Bocochibampo, Sonora*	1	23-nov-95
		Los Mochis, Sinaloa	10	05-oct-00

Tabla 3.2 Datos de muestreo de *C. medius*

Población	N pob.	Localidad	N	Fecha colecta
Guerrero-Oaxaca	27	Acapulco, Guerrero	6	10-jul-99
		Laguna de Chacahua, Oaxaca	2	02-jun-00
		Puerto Escondido, Oaxaca	1	02-jun-00
		Estero El Corralillo, Oaxaca	18	03-jun-00
Nayarit	23	El Chirimoyo, Nayarit	1	07-may-99
		San Blas, Nayarit	3	05-jul-99
		San Blas, Nayarit	15	02-oct-00
		Laguna Agua Brava, Nayarit	1	10-sep-99
		Laguna Agua Brava, Nayarit*	3	19-ene-96
Sinaloa	27	Mazatlán, Sinaloa	9	10-sep-99
		Zona Mármol-Pixtla, Sinaloa*	19	3-17-sep-95
		Barra de Pixtla, Sinaloa*	1	19-mar-96

Tabla 3.3 Datos de muestreo de *C. robalito*.

Población	N pob.	Localidad	N	Fecha colecta
Oaxaca	21	Laguna de Chacahua, Oaxaca	1	02-jun-00
		Puerto Escondido, Oaxaca	14	02-jun-00
		El Corralillo, Oaxaca	6	05-jun-00
Guerrero	23	Laguna de 3 Palos Guerrero	22	03-oct-98
		Acapulco, Guerrero	1	10-jul-99
Nayarit	30	Tuxpan, Nayarit	15	06-may-99
		El Chirimoyo, Nayarit	9	07-may-99
		San Blas, Nayarit	6	05-jul-99
Sinaloa	29	Mazatlán, Sinaloa	20	05-feb-98
		Mazatlán, Sinaloa	4	05-may-99
		Laguna Huizache-Caimanero, Sinaloa*	3	27-jun-97
		Laguna Huizache-Caimanero, Sinaloa*	2	11,30-sep-97

* Muestras donadas por el Laboratorio de Ictiología y Biodiversidad del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) de Mazatlán.

3.2 Trabajo experimental

3.2.1 Isoenzimas

Para la obtención de los extractos proteicos se utilizó aproximadamente una porción de 0.5 a 1.0 g de tejido muscular más una proporción equivalente (0.5-1.0 mL) de solución homogeneizadora (0.01M Tris, 1.21 g/L ; 0.001M EDTA, 0.37 g/L ; NADP, 40 mg; pH 6.8). El tejido se maceró y posteriormente fue centrifugado a 5,000 r.p.m. El sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo y utilizado como extracto proteico. Para la electroforesis se cortaron tiras pequeñas (2x13mm.) de papel filtro (Wathman No. 3), mismas que se introdujeron en cada uno de los extractos proteicos de cada organismo y colocadas en geles de almidón al 1.2% (Sigma, S-5651) para ser sometidos a electroforesis utilizando los sistemas de amortiguador ("buffer") Tris-Glicina (Pasteur *et al.*, 1988) y Tris-Citrato II (Selander *et al.*, 1971). Los corrimientos se realizaron a 4°C (en refrigerador) a 240 voltios (V) y 25-35 miliamperes (mA) durante 20 horas en Tris-Glicina y a 80 V y 45 mA durante aproximadamente 12 horas en Tris-Citrato II. La Tabla 2 muestra las enzimas ensayadas y los sistemas de buffer empleados, así como el número de loci detectados. Una vez terminado el corrimiento se procedió a cortar el gel en rebanadas delgadas y se adicionaron a cada una aproximadamente 50 mL de una solución de tinción histoquímica (específica para cada enzima) a una rebanada del gel. Las soluciones fueron preparadas conforme a protocolos previamente establecidos para isoenzimas (Shaw y Prasad, 1970; Pasteur *et al.*, 1988; Apéndice I). Las enzimas analizadas se muestran en la tabla 3.2.

3.2.2 RAPD's

Se llevó a cabo el aislamiento de DNA genómico de 24 muestras de cada población y cada especie mediante la técnica de doble extracción con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico que consiste en los siguientes pasos:

1. Macerado de una porción de 0.1 a 0.5 g de tejido muscular con bisturíes estériles. Posterior incubación a 55 ° C en 800 a 1000 µl. de solución amortiguadora ("buffer") de extracción (10 mM Tris, 0.1M EDTA, 0.5% SDS, pH 7.8, estéril y 30 µL de Proteinasa K, 100 mg en 5 mL) de 1 a 3 horas. Con una opcional prolongación de la incubación (1 a 3 horas más y otros 30 µL de Proteinasa K).
2. Extracción con 600-700 µL de fenol equilibrado e incubación durante 5 minutos seguida de centrifugación a 14,000 r.p.m. durante 5 min. Transferencia del sobrenadante a un

tubo nuevo, seguida de doble extracción con 600-700 μL de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (24:24:1) e inmediata centrifugación a 14,000 r.p.m. durante 5 min.

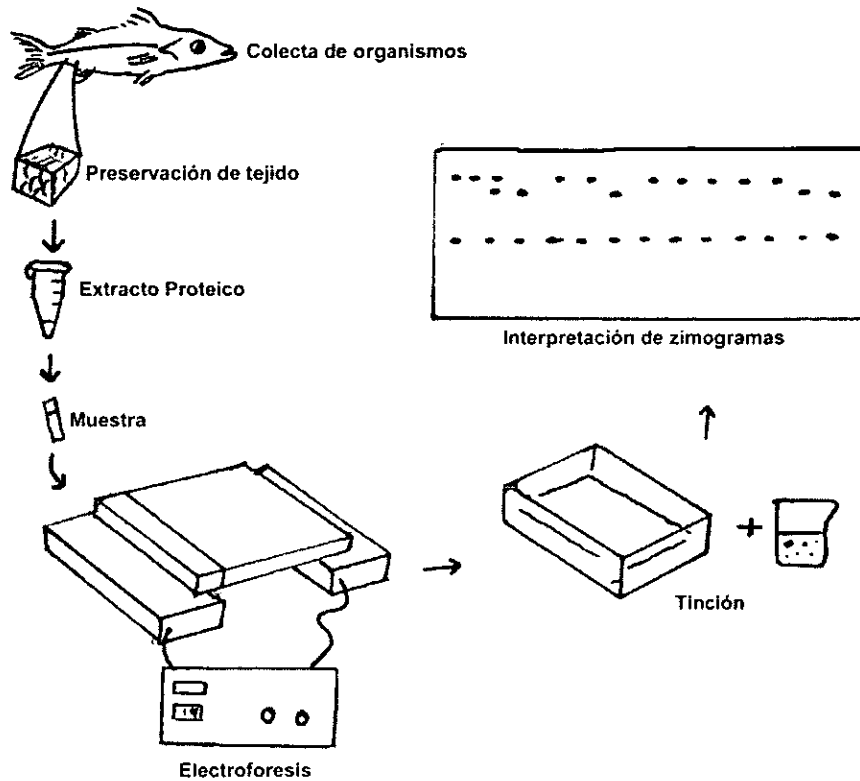


Figura 3.2 Esquema resumido de la técnica de isoenzimas: Después de coleccionar los organismos y obtener una porción de tejido muscular, se obtiene un extracto proteico homogeneizando una porción de tejido con buffer. Para la electroforesis se moja un pedazo de papel filtro en el extracto proteico y se coloca en el interior del gel junto con los de otros 30 organismos. El gel se pone en contacto con un buffer determinado al cual se aplica corriente eléctrica. Después de un tiempo determinado por el voltaje y amperaje aplicados y el sistema de buffer utilizado, se extrae el gel y se rebana. Cada rebanada se coloca en una bandeja donde se adiciona una solución con sustratos y reactivos que producen un precipitado de color que tinte el gel en las regiones en donde se encuentran las diferentes isoformas de la enzima en cuestión. El patrón observado es fotografiado e interpretado.

3. Transferencia del sobrenadante a un tubo nuevo, seguida de doble extracción con 600-700 μL de cloroformo-alcohol isoamílico 24:1 e incubación por espacio de 5 min. y centrifugación a 14,000 r.p.m. durante 3 minutos.
4. Transferencia del sobrenadante a un tubo nuevo, seguida de la adición de una proporción de 1/10 de volumen de acetato de sodio 3 M y etanol (100%) frío (-20°C) hasta completar el tubo. Incubación durante media hora o toda la noche.

5. Centrifugación a 14,000 r.p.m. para la formación de la pastilla (“pellet”) seguida de una decantación y adición de 800 μ L (lavado) de etanol al 70% con solución amortiguadora TE (10mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 8) a -20° C. Homogeneización suave seguida de centrifugación a 14,000 r.p.m. Decantado y secado de la pastilla en el tubo. Este paso se realiza dos veces con etanol al 70% (con TE) y después se adicionan 100 μ L de TE para almacenarlas a -70° C.

Para llevar a cabo las reacciones de PCR primero se cuantificó el DNA obtenido de cada muestra utilizando un fluorómetro DyNA Quant 200 marca Hoefer de Pharmacia Biotech para lo cual se siguió el procedimiento estipulado por el fabricante que consiste en:

1. Preparación de la solución de ensayo para mediciones de bajo rango (10 a 500 ng de DNA) adicionando 10 μ L de solución base de Hoechst (preparada con 10 mL de agua bidestilada estéril y 10 mg de Hoechst dye H 33258 Sigma) a 10 mL de “buffer” TNE 10X (0.2 M NaCl, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.4) y 90 mL de agua bidestilada estéril.
2. Preparación de la solución de DNA Standard: adicionando 10 μ L de Stock de DNA standard (1mg/mL) Calf Thymus DNA (Sigma D-0805) a 10 μ L de “buffer” TNE 10X y 80 μ L de agua bidestilada estéril.
3. Preparación del “ensayo blanco” con 2 mL de solución de ensayo de bajo rango para posicionar en cero la lectura; adición de 2 μ L de la solución de DNA Standard, mezclado ligero e inserción de la cubeta en el aparato para calibrar tecleando el valor de 100 ng/mL.
4. Retirado, vaciado, enjuagado (con agua bidestilada) y secado de la cubeta seguido de adición de otros 2 mL de solución de ensayo de bajo rango para posicionar en cero el aparato y después adicionar 2 μ L de la muestra de DNA que se pretende cuantificar. Tomado de la lectura y repetición de este paso para cada muestra que se cuantifique.

Una vez cuantificado el DNA de las muestras se hicieron diluciones a fin de obtener para cada muestra una solución con 1 ng de DNA por μ L de solución. En la fase de estandarización de la técnica se hacen pruebas con distintas concentraciones de DNA de la muestra así como de otros componentes de la reacción de PCR como son la solución de cloruro de magnesio ($MgCl_2$) para utilizar las que presenten mejores resultados. En este caso se utilizaron concentraciones de 1ng/ μ L de templado de DNA y 1.6 μ L de solución de $MgCl_2$ 60mM.

Para el PCR se llevaron a cabo ensayos para determinar que oligonucleótidos iniciadores o “primers” resultaban convenientes, de tal manera que se ensayaron un total de 40 “primers” de las series OPF y OPA de la línea de “primers” aleatorios para RAPD’s de la marca Operon. Se eligieron los siguientes: OPF-10 (5'-GGAAGCTTGG-3') para las 3 especies, OPF- 9 (5'-CCAAGCTTCC-3') para *C. viridis* y OPF-13 (5'-GGCTGCAGAA-3') para *C. medius* y *C. robalito*.

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen de 25 μ L aprox. por muestra, que contenían lo siguiente:

2 μ L de primer;

15.25 μ L de agua bidestilada;

2.5 μ L de Buffer de PCR 10X (100mM KCl, 200mM Tris-HCl pH 8.8, 100mM (NH₄)₂SO₄, 10% Triton X-100, 100 μ g/mL BSA) proporcionada por el proveedor de la polimerasa;

4 μ L de solución de nucleótidos trifosfato (NTP's) hecha con 125 μ L de cada solución de cada nucleótido (ATP, CTP, GTP, TTP) a 10mM y 500 μ L de agua bidestilada estéril;

0.25 μ L de Taq DNA Polimerasa marca BioSelec;

1.25 μ L de templado de ADN;

1.6 μ L de sol. de MgCl₂ 30X (60mM);

Se llevaron a cabo tres reacciones por cada muestra de cada organismo (una para cada primer) y se sometieron a un PCR consistente en un paso inicial a 94° C por un minuto para desnaturalizar todo el DNA del templado; 44 ciclos con tres pasos cada uno: 94° C por un minuto para desnaturalizar los fragmentos seguido de un minuto a 37° C (temperatura de alineamiento de los “primers”) y dos minutos a 72° C (temperatura de extensión o polimerización). Se agrega un paso al final para permitir la extensión de fragmentos incompletos durante 15 minutos a 72° C. El tiempo total de cada PCR fue de alrededor de cinco horas con 30 minutos y se llevaron a cabo en un Termociclador Gene Cycler marca Bio-Rad.

Los productos resultantes del PCR fueron separados y visualizados en geles de agarosa al 1.4 % (agarosa Gibco BRL Cat. 15510-019 de Life Technologies) y teñidos con solución de bromuro de etidio (10mg/mL Gibco) adicionado al prepararse el gel: 5.2 μ L por cada 100 ml de buffer TBE 1X pH 8.0 (este último se prepara diluyendo TBE 5X estéril, 0.5 M Tris, 0.45 M ácido bórico anhidro,

5mM EDTA) el cual sirve también como buffer de electrodo. Las electroforesis horizontales se corrieron a 90 V y 80-100 mA por 1 hora 45 minutos aproximadamente.

Los productos así separados se visualizaron en un transiluminador UV standard (300 nm) y se fotografiaron con película Polaroid instantánea tipo 667 ISO 3000 utilizando un filtro anaranjado.

Posteriormente las fotografías fueron analizadas y se descartaron las bandas menos consistentes para lo cual se llevaron a cabo reacciones de PCR adicionales utilizando un gradiente de temperatura de $\pm 8^{\circ}$ C para la temperatura de alineamiento de los iniciadores al templado. Las bandas que más fácilmente desaparecían en las filas correspondientes a temperaturas diferentes de la temperatura de alineamiento teórica (T_m) calculada fueron descartadas.

Tanto para RAPD's como para isoenzimas, se construyó una base de datos conteniendo la información obtenida de la interpretación de los geles, en el formato requerido por el programa TFPGA (Miller, 1998) y Arlequín (Schneider *et al.*, 2000).

3.3 Análisis

Mediante los programas computacionales TFPGA (Miller, 1998) Arlequín (Schneider *et al.*, 2000) se obtuvieron las estimaciones de: frecuencias alélicas, distancias e identidades genéticas (Nei, 1972; 1978), los estadísticos F de Weir y Cockerham (1984): F , θ y f que corresponden al coeficiente de endogamia, al coeficiente de "coancestría" de genes dentro de una población (y que equivale al grado de divergencia intrapoblacional) y a la endogamia intrapoblacional, respectivamente. Las estimaciones de F_{ST} de Reynolds *et al.* (1995) fueron analizados en el programa Arlequín (Schneider *et al.*, 2000). La aplicación de pruebas estadísticas de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (Haldane, 1954) se llevaron a cabo mediante el programa TFPGA (Miller, 1998) en el cual también se llevó a cabo la prueba de probabilidad exacta de Raymond y Rousset, (1995) que consiste en un análisis de contingencia para cada locus polimórfico obteniéndose, en el mismo proceso, valores de probabilidad mediante la Prueba de Probabilidad Combinada de Fisher (Sokal y Rohlf, 1995). Adicionalmente, el programa obtuvo valores de error de estimación mediante la generación de remuestreos aleatorios mediante la simulación de Monte Carlo, utilizando 20 ciclos consistentes de 1000 permutaciones cada uno. Dicho programa

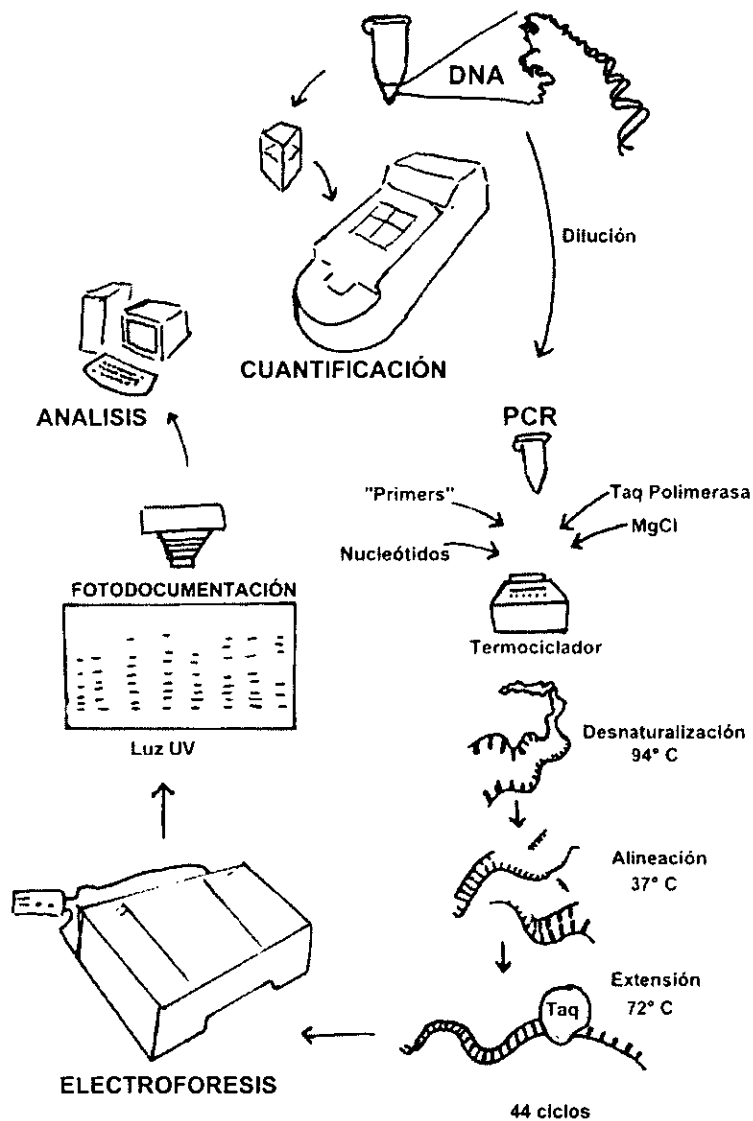


Figura 3.3 Esquema resumido de la técnica de RAPD's: Una vez extraído el DNA genómico de una porción de tejido, este se cuantifica en un fluorómetro. Una vez conocida la concentración de todas las muestras, se hacen diluciones para obtener una concentración de 1 ng/μL. El templado de DNA (ya diluido) se somete a una reacción en cadena de polimerización o PCR consistente en 44 ciclos con 3 pasos cada uno: una desnaturalización inicial a 94° C, una alineación de los iniciadores ("primers") a 37° C y una polimerización o extensión de nuevas cadenas complementarias de DNA por acción de la polimerasa. El DNA amplificado de esta manera se separa mediante electroforesis en gels de agarosa teñidos con bromuro de etidio y visualizados con luz UV. Entonces se fotografían para su posterior interpretación y análisis.

también fue utilizado para construir dendrogramas basados en estimaciones de distancias genéticas usando la técnica de UPGMA (Unweighted-Pair Group Method with Arithmetic Means) de acuerdo a Swofford y Olsen (1990). Los estimadores de divergencia poblacional θ y F_{ST} , los estimadores de migración $M\theta$ (que equivalen al número efectivo de migrantes por generación) fueron obtenidos como se indica en Slatkin, (1993) y con el programa Arlequín. Adicionalmente, se construyeron matrices con los logaritmos de las distancias geográficas, con los logaritmos de los estimados de migración ($M\theta$) y con los valores de F_{ST} , las cuales fueron comparadas mediante una prueba de Mantel (Mantel, 1967; Sokal, 1979). Adicionalmente se llevó a cabo un Análisis de Varianza Molecular para probar la estructura genética sugerida por los árboles construidos con distancias genéticas y F_{ST} obtenidos tanto con isoenzimas como con RAPD's. En dicho análisis se compararon las varianzas entre grupos de poblaciones (de acuerdo a los árboles generados), entre poblaciones y dentro de las poblaciones y se obtienen estimaciones de significancia de las diferencias encontradas (Excoffier *et al.*, 1992). El programa Arlequín también fue utilizado para llevar a cabo una Prueba Exacta para detectar desequilibrio de ligamiento entre pares de loci (Slatkin, 1994).

4. Resultados

4.1 Isoenzimas

Se resolvieron satisfactoriamente nueve enzimas con un total de 12 loci para cada especie (tabla 4.1). En todas las especies ocurrió que, debido a las bajas frecuencias de muchos alelos y a su aparición casi exclusivamente en una sola población, el polimorfismo y la heterocigosis detectada para cada población con frecuencia resultaron muy distintos de los valores globales (tabla 4.2). La heterocigosis observada fue menor en todos los casos a la esperada, pero de manera más notoria en *C. medius* (ver tabla 4.2). Los porcentajes de polimorfismo son mostrados en la tabla 4.2. Debido a que la mayoría de los loci que presentaron variación tenían frecuencias cercanas al 95 % del alelo más común, se consideró conveniente incluir también el criterio 99 % (tabla 4.6) ya que la simple exclusión o inclusión de unos pocos organismos (incluso de uno solo) significó la diferencia entre una categoría y otra.

Las frecuencias alélicas encontradas para aquellos loci que resultaron polimórficos (con el criterio del 95%) se muestran en las tablas 4.3, 4.4 y 4.5 donde también se pueden observar las heterocigosis observadas de cada locus, mostrándose que la especie con mayor cantidad de loci polimórficos (con criterio del 95%) fue *C. medius*.

también fue utilizado para construir dendrogramas basados en estimaciones de distancias genéticas usando la técnica de UPGMA (Unweighted-Pair Group Method with Arithmetic Means) de acuerdo a Swofford y Olsen (1990). Los estimadores de divergencia poblacional θ y F_{ST} , los estimadores de migración $M\theta$ (que equivalen al número efectivo de migrantes por generación) fueron obtenidos como se indica en Slatkin, (1993) y con el programa Arlequín. Adicionalmente, se construyeron matrices con los logaritmos de las distancias geográficas, con los logaritmos de los estimados de migración ($M\theta$) y con los valores de F_{ST} , las cuales fueron comparadas mediante una prueba de Mantel (Mantel, 1967; Sokal, 1979). Adicionalmente se llevó a cabo un Análisis de Varianza Molecular para probar la estructura genética sugerida por los árboles construidos con distancias genéticas y F_{ST} obtenidos tanto con isoenzimas como con RAPD's. En dicho análisis se compararon las varianzas entre grupos de poblaciones (de acuerdo a los árboles generados), entre poblaciones y dentro de las poblaciones y se obtienen estimaciones de significancia de las diferencias encontradas (Excoffier *et al.*, 1992). El programa Arlequín también fue utilizado para llevar a cabo una Prueba Exacta para detectar desequilibrio de ligamiento entre pares de loci (Slatkin, 1994).

4. Resultados

4.1 Isoenzimas

Se resolvieron satisfactoriamente nueve enzimas con un total de 12 loci para cada especie (tabla 4.1). En todas las especies ocurrió que, debido a las bajas frecuencias de muchos alelos y a su aparición casi exclusivamente en una sola población, el polimorfismo y la heterocigosis detectada para cada población con frecuencia resultaron muy distintos de los valores globales (tabla 4.2). La heterocigosis observada fue menor en todos los casos a la esperada, pero de manera más notoria en *C. medius* (ver tabla 4.2). Los porcentajes de polimorfismo son mostrados en la tabla 4.2. Debido a que la mayoría de los loci que presentaron variación tenían frecuencias cercanas al 95 % del alelo más común, se consideró conveniente incluir también el criterio 99 % (tabla 4.6) ya que la simple exclusión o inclusión de unos pocos organismos (incluso de uno solo) significó la diferencia entre una categoría y otra.

Las frecuencias alélicas encontradas para aquellos loci que resultaron polimórficos (con el criterio del 95%) se muestran en las tablas 4.3, 4.4 y 4.5 donde también se pueden observar las heterocigosis observadas de cada locus, mostrándose que la especie con mayor cantidad de loci polimórficos (con criterio del 95%) fue *C. medius*.

En las comparaciones entre poblaciones encontramos que la población de Sinaloa acapara una cantidad importante de variación en las tres especies (Tabla 4.2).

Los loci que no están en equilibrio de Hardy-Weinberg según la prueba de probabilidad exacta de Haldane (1954) se muestran en la tabla 4.6. En todos los casos las desviaciones mostradas por los alelos GPI mostraron un importante exceso de heterocigotos mientras que para los alelos de enzimas peptidasas, PGM y 6 PGD mostraron déficit de los mismos.

Tabla 4.1 Loci resueltos y sistema de "buffer" utilizados para el análisis de isoenzimas en las diferentes especies de robalos analizadas.

Nombre de la Enzima	No. de loci	Buffer	Polimórfica para		
			<i>C. viridis</i>	<i>C. medius</i>	<i>C. robalito</i>
Glucosa fosfato isomerasa (GPI)	2	T.Gly	Si	Si	Si
Dipeptidasa leucina-alanina (LA)	2	T.Gly	Si	Si	Si
Dipeptidasa fenilalanina-prolina (PAP)	1	T.C.II	Si	Si	Si
Tripeptidasa leucina-glicina-glicina (LGG)	2	T.Gly	Si	Si	
Fosfogluconato deshidrogenasa (6PGD)	1	T.C.II	Si	Si	
α -Glicerofosfato deshidrogenasa (α -GPD)	1	T.C.II			
Isocitrato deshidrogenasa (ICD)	1	T.C.II			
Lactato deshidrogenasa (LDH)	2	T.C.II			
Malato deshidrogenasa (MDH)	1	T.C.II			
Fosfoglucomutasa (PGM)	1	T.C.II	Si	Si	Si
Glutamato oxalacetato transaminasa (GOT)	1	T.C.II			

Nota: Nomenclatura de acuerdo a Shaklee *et al.*, 1990.

La presencia de estructura genética poblacional sólo fue detectada en las especies *Centropomus viridis* y *Centropomus medius*. Dicha diferenciación resultó muy tenue y solamente resultó significativa en algunos casos cuando se compararon pares de poblaciones. En el caso de *C. viridis* los valores de θ (estadísticos F) resultaron menores a su desviación estandar, lo que impide afirmar que exista diferenciación significativa debido a la magnitud del error (tabla 4.7). Los valores estimados de θ y F_{ST} de Reynolds *et al.* (1983) solo presentaron diferenciación significativa entre la población de Guerrero-Oaxaca y la de Sinaloa (tabla 4.8 y 4.11). Los valores de significancia en la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995) arrojaron el mismo resultado (tabla 4.11). Las distancias genéticas (Nei, 1972) entre pares de poblaciones fueron pequeñas y no del todo congruentes con las distancias geográficas y la ubicación de las poblaciones. La comparación de matrices de distancias geográficas y sus logaritmos contra distancias genéticas, estimados de

migración y F_{ST} no presentaron correlación alguna siendo en todos los casos el coeficiente de correlación menor a 0.66, por lo que no fue posible afirmar la presencia de aislamiento por distancia entre las poblaciones.

En el caso de *Centropomus medius* la diferenciación poblacional fue más evidente; los valores de θ así como los de F_{ST} resultaron significativos entre los pares de poblaciones: Guerrero-Oaxaca - Nayarit y Guerrero-Oaxaca - Sinaloa siendo más altos que los estimados para *C. viridis* (tablas 4.7 y 4.9). La prueba exacta también resultó significativa tanto en el análisis simultáneo para todas las poblaciones como en el análisis entre pares de poblaciones exceptuando al análisis entre la población de Nayarit y la de Sinaloa ($p=0.6816$; tablas 4.7 y 4.11). La comparación de matrices de distancias geográficas y genéticas presentó un coeficiente de correlación muy alto (0.999) al igual que el obtenido entre matrices de distancia geográfica y F_{ST} (0.998) por lo que se consideró que el aislamiento por distancia tiene un efecto importante en la divergencia poblacional revelada con isoenzimas.

Tabla 4.2 Heterocigosis esperada, sin sesgo (He) y observada (Ho) por población y por especie, y polimorfismo con criterio de 95% y 99%.

Especie	Pob.	He	Ho	95%	99%
<i>C. viridis</i>	Gue-Oax	0.0578	0.0547	8.33	35.71
	Nayarit	0.0895	0.0833	28.57	42.85
	Sinaloa	0.1497	0.1136	50	64.28
	L M-Son	0.1018	0.0833	28.57	28.57
Total		0.1023	0.0842	28.57	64.28
<i>C. medius</i>	Gue-Oax	0.0967	0.0513	21.42	42.85
	Nayarit	0.0714	0.0417	21.42	42.85
	Sinaloa	0.2227	0.0446	35.71	42.85
Total		0.0894	0.0461	35.71	50
<i>C. robalito</i>	Oaxaca	0.118	0.0913	35.71	35.71
	Guerrero	0.098	0.1051	14.28	28.57
	Nayarit	0.0963	0.0917	28.57	28.57
	Sinaloa	0.1326	0.1139	42.85	50
Total		0.1115	0.1010	0.2142	42.85

Centropomus robalito fue la única especie que no presentó diferenciación poblacional alguna pues los valores de θ no presentaron valores significativos (tablas 4.7 y 4.10). La aplicación de la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995) no arrojó valores significativos en el análisis simultáneo de todas las poblaciones ni en el análisis con pares de poblaciones (tablas 4.7 y 4.11). Tampoco fue detectada alguna correlación entre matrices de distancias geográficas y distancias genéticas (tabla 4.14) o F_{ST} .

Un análisis de UPGMA generó los árboles mostrados en las figuras 4.2, 4.4 y 4.6.

Los estimados de migración dados en número de migrantes por generación obtenidos mediante el programa Slatkin se muestran en la tabla 4.15.

Tabla 4.3, 4.4 y 4.5 Frecuencias alélicas en loci polimórficos (95%). Los números en la columna de la derecha corresponden al alelo y Ho a la heterocigosis observada en el locus respectivo. La N al final de la tabla corresponde al no. de genes muestreados en cada población.

C. viridis

Localidad/ Locus, alelo	Gue-Oax	Nayarit	Sinaloa	L M-Son
<i>Gpi-2*</i>				
107	0.0156	0.0000	0.0455	0.0000
105	0.3906	0.4318	0.3939	0.4000
100	0.5625	0.5682	0.5606	0.6000
97	0.0313	0.0000	0.0000	0.0000
Ho	0.5000	0.6818	0.5758	0.6000
<i>La-1*</i>				
102	0.0156	0.0000	0.0000	0.0000
100	0.9844	0.9318	0.8939	0.8000
98	0.0000	0.0682	0.1061	0.2000
Ho	0.0313	0.0455	0.0909	0.2000
<i>Pap*</i>				
108	0.0000	0.0000	0.1970	0.1000
100	0.9844	1.0000	0.8030	0.9000
90	0.0156	0.0000	0.0000	0.0000
Ho	0.0313	0.0000	0.2727	0.0000
<i>Pgm*</i>				
104	0.0000	0.0455	0.0909	0.0000
100	0.9844	0.9318	0.8939	1.0000
95	0.0156	0.0227	0.0152	0.0000
Ho	0.0313	0.1364	0.0909	0.0000
N	64	44	64	22

C. medius

Localidad/ Locus, alelo	Gue-Oax	Nayarit	Sinaloa
<i>Gpi-2*</i>			
107	0.0192	0.0227	0.0357
105	0.8462	0.9545	0.9643
100	0.1346	0.227	0.0000
Ho	0.1538	0.0909	0.1071
<i>La-2*</i>			
102	0.9808	0.8182	0.8750
100	0.0000	0.1818	0.1250
98	0.0192	0.0000	0.0000
Ho	0.0385	0.1818	0.1071
<i>Pap*</i>			
108	0.3462	0.1364	0.1071
100	0.5385	0.8636	0.8929
90	0.1154	0.0000	0.0000
Ho	0.2318	0.0909	0.0714
<i>Lgg-2*</i>			
100	0.9423	0.9318	0.9286
98	0.0192	0.0682	0.0536
95	0.0385	0.0000	0.0179
Ho	0.1155	0.0455	0.0714
<i>Pgm*</i>			
104	1.0000	0.9773	0.8393
100	0.0000	0.0227	0.1607
Ho	0.0000	0.0455	0.1071
N	52	44	56

C. robalito

Localidad/ Locus, alelo	Guerrero	Oaxaca	Nayarit	Sinaloa
Gpi-1*				
107	0.0000	0.0000	0.0000	0.0333
105	0.5000	0.4348	0.4667	0.4500
100	0.5000	0.5000	0.5167	0.5167
97	0.0000	0.0652	0.0167	0.0000
Ho	0.4286	0.8696	0.7000	0.4667
Pap*				
108	0.07143	0.0217	0.0167	0.0500
100	0.07143	0.6522	0.7000	0.5500
90	0.2143	0.3261	0.2833	0.0400
Ho	0.4762	0.2609	0.2000	0.5333
Pgm*				
100	0.9286	0.9565	1.0000	0.9000
95	0.0714	0.0435	0.0000	0.1000
Ho	0.0476	0.0870	0.0000	0.1333
N	42	46	60	60

Tabla 4.6 Polimorfismo y equilibrio de Hardy-Weinberg. Las casillas indican el criterio bajo el cual el locus resulta polimórfico. Si no presenta polimorfismo se denota con una "M". "E" indica que el locus presenta equilibrio de Hardy-Weinberg y "N" indica que el locus no está en equilibrio de acuerdo a lo obtenido mediante la prueba de probabilidad exacta de Haldane (1954).

Especie	Pob.	Polimorfismo y equilibrio de Hardy-Weinberg								
		<i>gpi-1*</i>	<i>gpi-2*</i>	<i>la-1*</i>	<i>la-2*</i>	<i>pap*</i>	<i>lgg-1*</i>	<i>lgg-2*</i>	<i>pgm*</i>	<i>6pgd*</i>
<i>C. viridis</i>	Gue-Oax	M	95%, E	99%, E	M	99%, E	M	M	99%, E	99%, E
	Nayarit	95%, E	95%, N	95%, N	99%, N	M	M	M	95%, E	99%, N
	Sinaloa	99%, E	95%, E	95%, N	95%, N	95%, E	95%, E	99%, N	99%, N	99%, N
	L M-Son	95%, E	95%, E	95%, E	M	95%, N	M	M	M	M
Total		99%, E	95%, N	95%, N	99%, N	95%, N	99%, N	99%, N	95%, N	99%, N
<i>C. medius</i>	Gue-Oax	99%, E	95%, N	M	99%, E	95%, N	M	95%, E	M	99%, N
	Nayarit	M	99%, E	99%, E	95%, N	95%, N	M	95%, N	99%, E	M
	Sinaloa	95%, E	99%, E	M	95%, N	95%, N	M	95%, N	95%, N	M
Total		99%, E	95%, N	M	95%, N	95%, N	M	95%, N	95%, N	99%, N
<i>C. robalito</i>	Oaxaca	95%, E	M	M	95%, N	95%, E	95%, N	M	95%, N	M
	Guerrero	95%, N	M	M	M	95%, N	M	99%, E	99%, E	M
	Nayarit	95%, N	M	95%, E	95%, E	95%, N	M	M	M	M
	Sinaloa	95%, E	M	95%, N	95%, E	95%, E	95%, N	99%, E	95%, N	M
Total		95%, N	M	99%, N	99%, N	95%, N	99%, N	M	95%, N	M

Nota: La nomenclatura de los loci es según Shaklee, (1990).

Tabla 4.7 Estadísticos de diferenciación poblacional f , θ , P y F de Weir y Cockerham (1984) y su significancia con intervalos de confianza del 95% obtenido mediante "bootstrapping"; y probabilidad de la prueba exacta de diferenciación poblacional de Raymond y Rousset (1995) obtenidas con datos de isoenzimas.

Especie	F	θ	f	P
<i>C. viridis</i>	0.1097 (-0.0157, 0.4738)	0.0088 (-0.0100, 0.0660)	0.0966 (-0.0075, 0.4567)	<0.0001
<i>C. medius</i>	0.5230 (0.3020, 0.6226)	0.0785 (0.0078, 0.1084)	0.4791 (0.2785, 0.5794)	<0.0001
<i>C. robalito</i>	0.0634 (-0.1039, 0.3609)	-0.0039 (-0.010, 0.010)	0.0657 (-0.0934, 0.3545)	0.0857

Tablas 4.8, 4.9 y 4.10 Estimadores de F_{ST} de Reynolds (et al., 1983) obtenida por el análisis de RAPD's (arriba) e isoenzimas (abajo).

C. viridis

	Gue-Oax	Nayarit	Sinaloa	L M-Son
Gue-Oax	-	0.455	0.172	0.414
Nayarit	-0.001	-	0.159	0.147
Sinaloa	0.039	0.017	-	0.192
L M-Son	0.037	-0.002	-0.002	-

C. medius

	Gue-Oax	Nayarit	Sinaloa
Gue-Oax	-	0.06	0.07
Nayarit	0.095	-	0.101
Sinaloa	0.112	0.006	-

C. robalito

	Oaxaca	Guerrero	Nayarit	Sinaloa
Oaxaca	-	0.0	0.001	0.0
Guerrero	-0.002	-	0.0	0.001
Nayarit	-0.004	-0.01	-	0.0
Sinaloa	0.006	-0.004	0.007	-

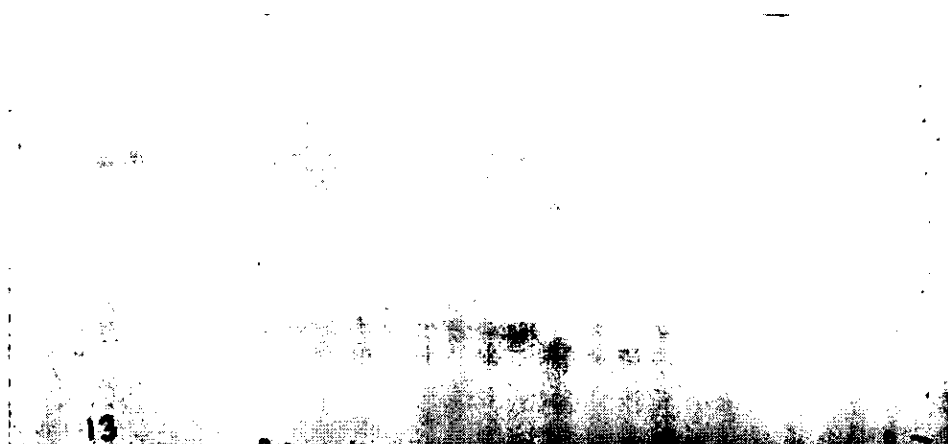


Figura 4.1 Patrón isoenzimático presentado por la enzima GPI, en el que se observan claramente 2 presuntos loci altamente variables.

Tabla 4.11 Estimados de θ entre pares de poblaciones y significancia de diferenciación poblacional obtenida de la prueba exacta de diferenciación poblacional de Raymond y Rousset (1995).

Especie	Pares de Localidades		RAPD's	Isozimas	RAPD's	Isozimas
<i>C. viridis</i>	Gue-Oax	Nayarit	0.35	-0.010	<0.0001	0.3177
	Gue-Oax	Sinaloa	0.115	0.027	0.0027	<0.0001
	Gue-Oax	LM-Son	0.289	-0.001	<0.0001	0.1328
	Nayarit	Sinaloa	0.124	0.011	<0.0001	0.1004
	Nayarit	LMSon	0.232	-0.011	<0.0001	0.9654
	Sinaloa	LMSon	0.187	-0.012	<0.0001	0.9129
<i>C. medius</i>	Gue-Oax	Nayarit	0.071	0.1	0.0007	0.0003
	Gue-Oax	Sinaloa	0.03	0.117	0.377	<0.0001
	Nayarit	Sinaloa	0.071	-0.001	0.0001	0.6816
<i>C. robalito</i>	Oaxaca	Guerrero	0.062	-0.004	0.1589	0.3046
	Oaxaca	Nayarit	0.024	-0.009	0.9509	0.2255
	Oaxaca	Sinaloa	0.053	0.004	0.6229	0.7026
	Guerrero	Nayarit	0.073	-0.01	0.5580	0.7991
	Guerrero	Sinaloa	0.059	-0.008	0.0606	0.5627
	Nayarit	Sinaloa	0.042	0.003	0.9995	0.4429

Tabla 4.12, 4.13 y 4.14 Distancias genéticas de Nei (1972) obtenida por el análisis de RAPD's (arriba) e isoenzimas (abajo).

C. viridis

	Gue-Oax	Nayarit	Sinaloa	L M-Son
Gue-Oax	-	0.2830	0.0901	0.2008
Nayarit	0.0012	-	0.1009	0.1557
Sinaloa	0.0053	0.0047	-	0.1652
L M-Son	0.0050	0.0035	0.0044	-

C. robalito

	Oaxaca	Guerrero	Nayarit	Sinaloa
Oaxaca	-	0.0399	0.0319	0.0644
Guerrero	0.0024	-	0.0498	0.0730
Nayarit	0.0017	0.0010	-	0.0395
Sinaloa	0.0038	0.0018	0.0029	-

C. medius

	Gue-Oax	Nayarit	Sinaloa
Gue-Oax	-	0.0638	0.0341
Nayarit	0.0117	-	0.0613
Sinaloa	0.0144	0.0024	-

Tabla 4.15 Estimados de migración de Slatkin (1993); M_{GST} y M_0 obtenidos mediante análisis de RAPD's e isoenzimas.

Especie	Pares de Localidades	RAPD's		Isoenzimas	
		M_{GST}	M_0	M_{GST}	M_0
<i>C. viridis</i>	Gue-Nay	0.885	1.438	28.514	-184.38
	Gue-Sin	2.932	-42.299	12.599	13.119
	Gue-L.M.	1.666	0.929	14.561	-72.95
	Nay-Sin	3.139	54.00	8.658	6.081
	Nay-L.M.	1.392	0.146	14.342	-101.46
	Sin-L.M.	1.073	0.078	7.924	3.979
<i>C. medius</i>	Gue-Nay	4.606	-1.478	3.740	2.298
	Gue-Sin	4.702	7.583	16.661	28.180
<i>C. robalito</i>	Nay-Sin	8.569	3.233	3.397	1.976
	Oax-Gue	4.658	-1.475	24.250	-99.093
	Oax-Nay	1.43	-1.151	32.246	-57.478
	Oax-Sin	1.424	0.791	20.595	34.697
	Gue-Nay	6.031	4.346	32.352	-50.164
	Gue-Sin	3.925	14.201	54.252	-24.213
	Nay-Sin	1.198	-0.888	18.313	38.756

4.2 RAPD's.

Se ensayaron preliminarmente 40 diferentes variedades de oligonucleótidos iniciadores (“primers”) de las serie OPA y OPF de la marca Operon. De ellos se eligieron los que mostraron mayor número de bandas con la claridad e intensidad suficientes. El OPF-10 fue utilizado para las tres especies: el OPF-13 presentó un patrón útil para *C. medius* y *C. robalito* y el OPF-9 para *C. viridis*. De las 46 bandas detectadas para ambos iniciadores solamente se tomaron 21 en *C. viridis* y en *C. medius* 22 de 34. El análisis de *C. robalito* se llevó a cabo con 19 de 36 detectadas (tabla 4.16).

Tabla 4.16 “Primers”, secuencias y número de bandas/loci, por especie utilizados para los ensayos con RAPD's.

	Secuencia	No. bandas totales/No. bandas utilizadas					
		<i>C. viridis</i>		<i>C. medius</i>		<i>C. robalito</i>	
OPF-10	5'-GGAAGCTTGG-3'	23	11	18	12	17	5
OPF-09	5'-CCAAGCTTCC-3'	23	10				
OPF-13	5'-GGCTGCAGAA-3'			16	10	19	14
Totales		46	21	34	22	36	19

Las heterocigosis totales esperadas obtenidas mediante RAPD's se muestran en la tabla 4.17.

Tabla 4.17 Heterocigosis esperada para cada población obtenida con bandas de RAPD's.

Especie	Localidad	He
<i>C. viridis</i>	Guerrero-Oaxaca	0.3062
	Nayarit	0.3183
	Sinaloa	0.4398
	L. Mochis-Sonora	0.2783
Total		0.4029
<i>C. medius</i>	Guerrero-Oaxaca	0.3858
	Nayarit	0.3725
	Sinaloa	0.3638
Total		0.3861
<i>C. robalito</i>	Oaxaca	0.2784
	Guerrero	0.2753
	Nayarit	0.3037
	Sinaloa	0.2477
Total		0.2869

A diferencia de lo que sucedió con isoenzimas los estimadores de subdivisión poblacional θ y F_{ST} en la especie *C. viridis* resultaron significativos en el análisis simultáneo para todas las poblaciones, en los análisis pareados y en la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995; tablas 4.8, 4.11 y 4.18).

En el caso de *C. medius* los valores estimados de θ y F_{ST} y las probabilidades de la prueba exacta muestran una tendencia discrepante con la encontrada en isoenzimas pues la población de Guerrero-Oaxaca aparece fuertemente relacionada con la población de Sinaloa lo que implicó que no se encontrara correlación de matrices de distancia geográfica con distancias genéticas ni otros estadísticos (tablas 4.9, 4.11 y 4.18). En todos las comparaciones la divergencia poblacional es significativa excepto en la prueba exacta de diferenciación poblacional entre las poblaciones de Guerrero-Oaxaca y Sinaloa (tabla 4.11).

Tabla 4.18 Estadístico de diferenciación poblacional θ de Weir y Cockerham (1984) con intervalos de confianza del 95% obtenido mediante "bootstrapping"; y probabilidad de la prueba exacta de diferenciación poblacional obtenidas con RAPD's.

Especie	θ	P
<i>C. viridis</i>	0.2097 (0.1361, 0.2759)	<0.0001
<i>C. medius</i>	0.0585 (0.0928, 0.0270)	<0.0001
<i>C. robalito</i>	0.0819 (0.1271, 0.0322)	0.0043

En el caso de *C. robalito*, no se encontró divergencia significativa ni con los estimados de F_{ST} y θ , ni con la prueba exacta de diferenciación poblacional (tablas 4.10, 4.11 y 4.18). Tampoco se obtuvieron valores significativos de correlación entre matrices de distancia geográfica y genética y distancia geográfica y F_{ST} .

Los estimados de migración obtenidos con esta técnica se muestran en la tabla 4.6.

Los árboles generados mediante UPGMA se muestran en las figuras 4.3, 4.5 y 4.7.

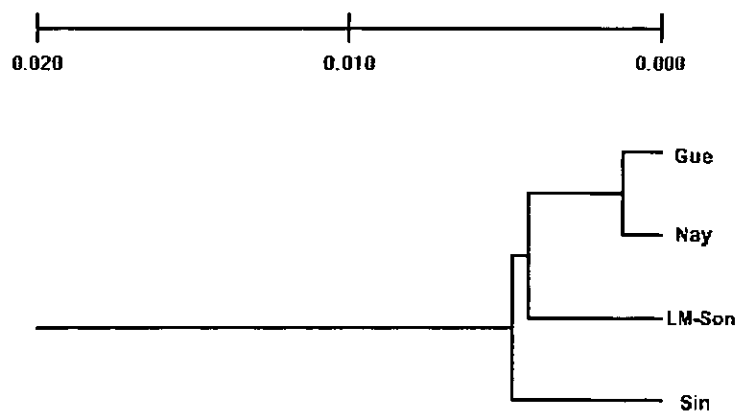


Figura 4.2 Dendrograma construido con las distancias genéticas obtenidas con isoenzimas mediante análisis de UPGMA entre poblaciones de *C. viridis*.

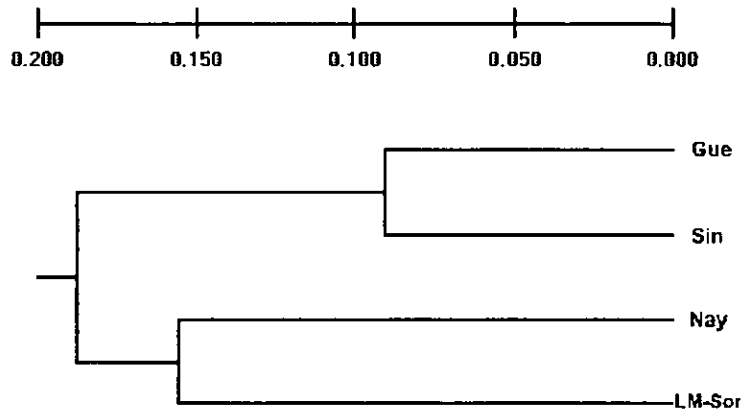


Figura 4.3 Dendrográma construido con las distancias genéticas obtenidas con RAPD's mediante análisis de UPGMA entre poblaciones de *C. viridis*.

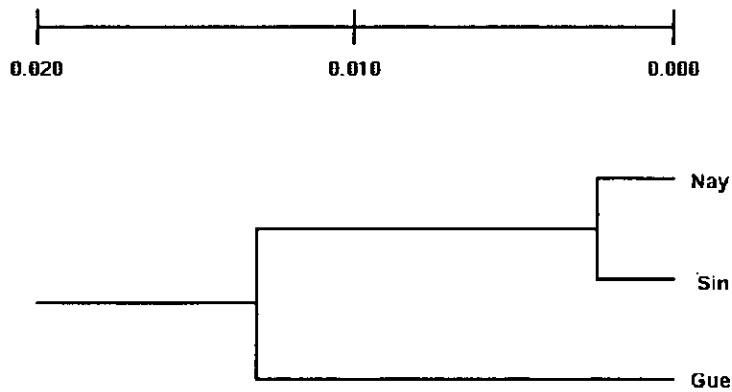


Figura 4.4 Dendrográma construido con las distancias genéticas obtenidas con isoenzimas mediante análisis de UPGMA entre poblaciones de *C. medius*.

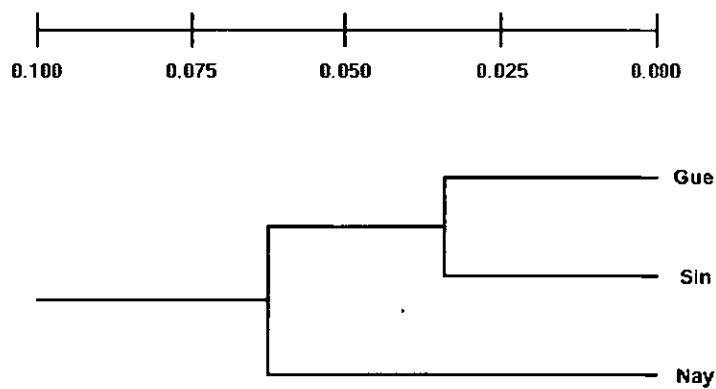


Figura 4.5 Dendrográma construido con las distancias genéticas obtenidas con RAPD's mediante análisis de UPGMA entre poblaciones de *C. medius*.

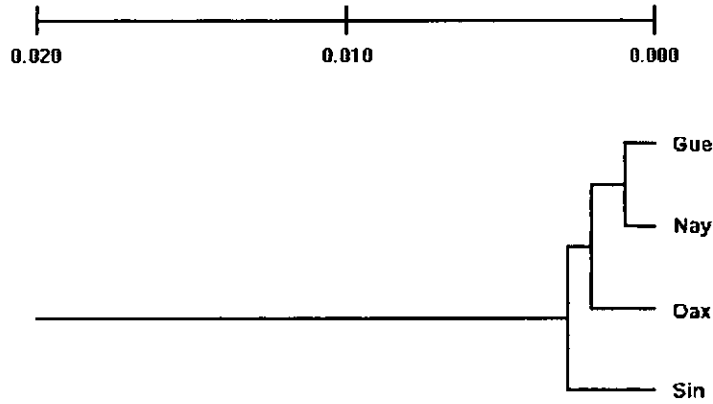


Figura 4.6 Dendrograma construido con las distancias genéticas obtenidas con isoenzimas mediante análisis de UPGMA entre poblaciones de *C. robalito*.

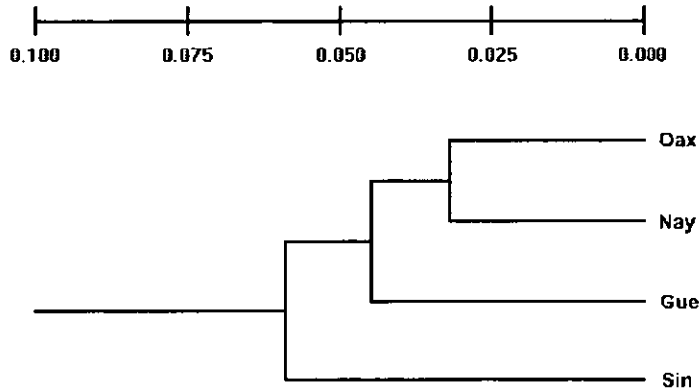


Figura 4.7 Dendrograma construido con las distancias genéticas obtenidas con RAPD's mediante análisis de UPGMA entre poblaciones de *C. robalito*.

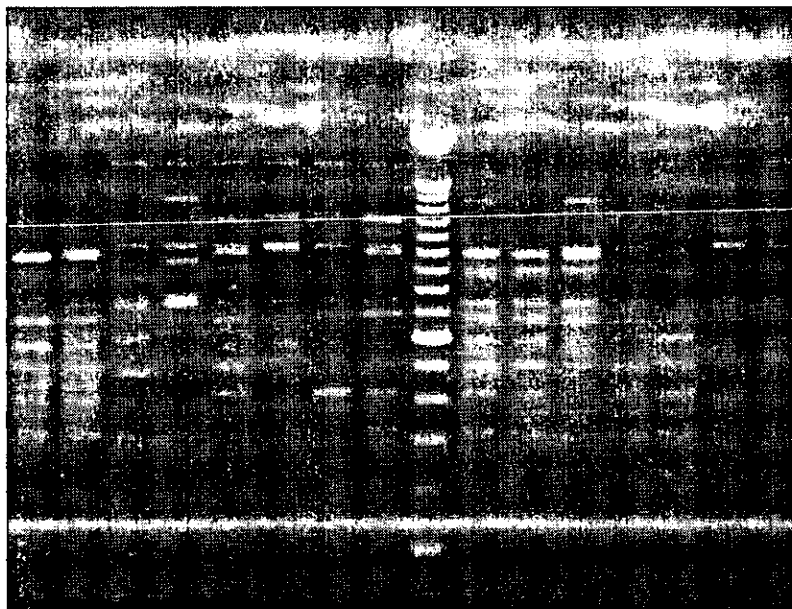


Figura 4.8 Patrón de bandeado de RAPD's

Los árboles generados con los valores de F_{ST} y θ tanto de RAPD's como de isoenzimas se muestran en las figuras 4.9, 4.10 y 4.11.

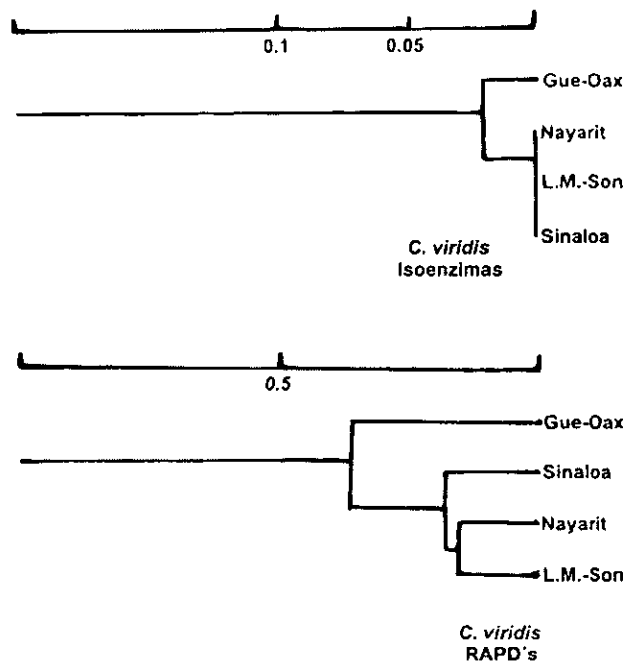


Figura 4.9 Árbol obtenido con F_{ST} de *C. viridis*

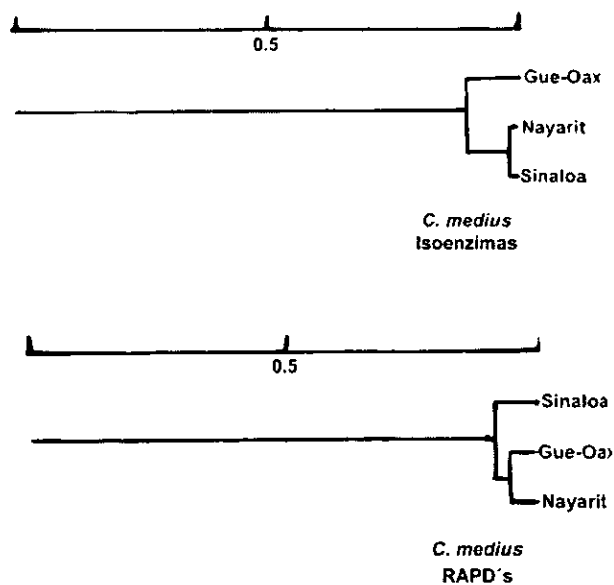


Figura 4.10 Árbol obtenido con F_{ST} de *C. medius*

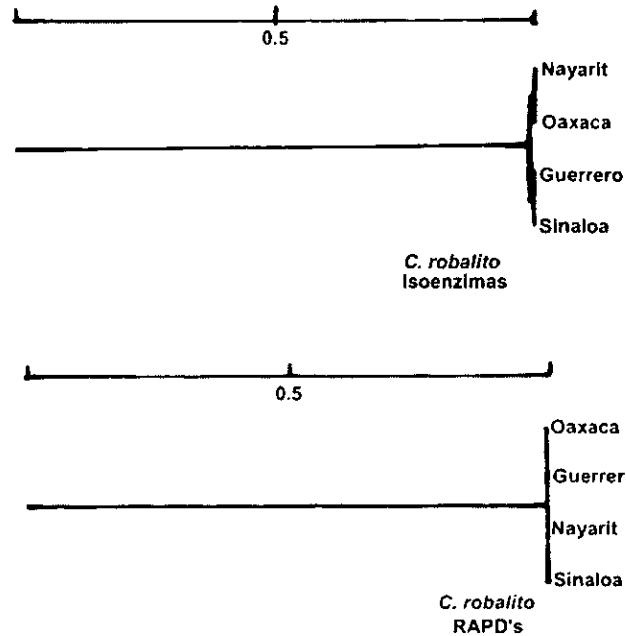


Figura 4.11 Árbol obtenido con F_{ST} de *C. robalito*

Para la especie *C. viridis* el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con datos de isoenzimas mostró los mayores valores de F_{ST} (porcentaje de variación debida a diferenciación entre los grupos de poblaciones) en la estructura genética que toma a la población de Sinaloa como un grupo y al resto como otro con un valor de $F_{ST} = 0.031$ ($p = 0.044$). Mientras la estructura genética que agrupó a Guerrero-Oaxaca y Nayarit (grupo 1) vs Sinaloa y Los Mochis-Sonora (grupo 2) tuvo una $F_{ST} = 0.028$ ($p = 0.044$). La estructura que agrupó a Guerrero-Oaxaca en un grupo y al resto de las poblaciones en otro presentó una $F_{ST} = 0.021$ ($p = 0.046$). El resto de las estructuras genéticas probadas no mostraron diferenciación intergrupala significativa (F_{ST}). En el análisis con RAPD's las estructuras con mayores porcentajes de variación debida a diferenciación entre grupos fueron Guerrero-Oaxaca y Sinaloa (en un grupo) y Nayarit y Los Mochis-Sonora (en otro grupo) con $F_{ST} = 0.312$ ($p < 0.0000$); y la estructura que agrupó a Guerrero-Oaxaca en un grupo y al resto en otro con una $F_{ST} = 0.326$ ($p < 0.0000$).

Para la especie *C. medius* el AMOVA presentó resultados contrastantes pues con isoenzimas la agrupación Guerrero-Oaxaca (un grupo) vs Nayarit Los Mochis-Sonora (en otro grupo) fue la única estructura significativa y estuvo ampliamente sustentada ($F_{ST} = 0.11$, $p < 0.0000$) mientras que en RAPD's dicha estructura fue la única no significativa siendo las otras dos débilmente sustentadas ambas con una $F_{ST} \approx 0.08$.

El Análisis de Varianza Moléculas no fue implementado en la especie *C. robalito* debido a que en los análisis anteriores no se encontraron evidencias de diferenciación interpoblacional significativa.

En la prueba para detectar desequilibrio gamético o desequilibrio de ligamiento aplicada a *C. viridis* con datos de isoenzimas se encontraron ocho asociaciones significativas entre pares de loci en la población de Sinaloa y dos en la población de Nayarit mientras que en el resto no se detectó desequilibrio. En la especie *C. medius* se detectó desequilibrio en un par de loci en la población de Guerrero-Oaxaca, dos en la población de Nayarit y cuatro en la de Sinaloa. En la especie *C. robalito* se detectó desequilibrio gamético en un par de loci en la población de Guerrero, también uno en la población de Sinaloa y ninguno en el resto.

5.1 Discusión

5.1.1 Variación Genética

Los resultados obtenidos muestran que los niveles de variación genética detectados difieren poco entre las tres especies. La heterocigosis esperada de todas las poblaciones en *C. robalito* es la mayor cifra de todas (0.1115 contra 0.1023 de *C. viridis* y 0.0894 de *C. medius*) aunque el polimorfismo mostró la tendencia contraria siendo en todos los casos menor a la de *C. medius* y *C. viridis*. Esta evaluación del polimorfismo está fuertemente influenciado el locus *gpi-1** en *C. robalito* cuyo elevado valor de heterocigosis (alrededor de 0.5) aportado por sus cuatro alelos aumenta sustancialmente el promedio de los demás loci. En las especies *C. medius* y *C. viridis* no sucede algo similar debido a que presentan variación importante en un mayor número de loci y a que la enzima GPI solamente presenta variabilidad elevada en *C. viridis*. Así, podemos afirmar que *C. robalito* tiene niveles inferiores de variabilidad isoenzimática con respecto a las otras dos especies excepto para el locus *gpi-1** que es hipervariable. La heterocigosis esperada total obtenida con RAPD's sustenta esta afirmación al arrojar una cifra sustancialmente menor para *C. robalito* que para las otras dos especies.

Las heterocigosis esperadas de las isoenzimas en las tres especies (0.101 en *C. viridis*; 0.089 en *C. medius* y 0.111 en *C. robalito*) resultaron mayores al promedio de 0.055 ± 0.036 de heterocigosis esperada reportado por Smith y Fujio (1982) para 106 especies de teleósteos marinos y semi-catádomos y cuyos valores más altos fueron para especies tropicales y subtropicales de amplia distribución, ambas características presentes en los robalos estudiados. También resultan superiores al promedio que Gyllensten (1985) reporta tanto para especies marinas (0.063) como anádromas

El Análisis de Varianza Molecular no fue implementado en la especie *C. robalito* debido a que en los análisis anteriores no se encontraron evidencias de diferenciación interpoblacional significativa.

En la prueba para detectar desequilibrio gamético o desequilibrio de ligamiento aplicada a *C. viridis* con datos de isoenzimas se encontraron ocho asociaciones significativas entre pares de loci en la población de Sinaloa y dos en la población de Nayarit mientras que en el resto no se detectó desequilibrio. En la especie *C. medius* se detectó desequilibrio en un par de loci en la población de Guerrero-Oaxaca, dos en la población de Nayarit y cuatro en la de Sinaloa. En la especie *C. robalito* se detectó desequilibrio gamético en un par de loci en la población de Guerrero, también uno en la población de Sinaloa y ninguno en el resto.

5.1 Discusión

5.1.1 Variación Genética

Los resultados obtenidos muestran que los niveles de variación genética detectados difieren poco entre las tres especies. La heterocigosis esperada de todas las poblaciones en *C. robalito* es la mayor cifra de todas (0.1115 contra 0.1023 de *C. viridis* y 0.0894 de *C. medius*) aunque el polimorfismo mostró la tendencia contraria siendo en todos los casos menor a la de *C. medius* y *C. viridis*. Esta evaluación del polimorfismo está fuertemente influenciado el locus *gpi-1** en *C. robalito* cuyo elevado valor de heterocigosis (alrededor de 0.5) aportado por sus cuatro alelos aumenta sustancialmente el promedio de los demás loci. En las especies *C. medius* y *C. viridis* no sucede algo similar debido a que presentan variación importante en un mayor número de loci y a que la enzima GPI solamente presenta variabilidad elevada en *C. viridis*. Así, podemos afirmar que *C. robalito* tiene niveles inferiores de variabilidad isoenzimática con respecto a las otras dos especies excepto para el locus *gpi-1** que es hipervariable. La heterocigosis esperada total obtenida con RAPD's sustenta esta afirmación al arrojar una cifra sustancialmente menor para *C. robalito* que para las otras dos especies.

Las heterocigosis esperadas de las isoenzimas en las tres especies (0.101 en *C. viridis*; 0.089 en *C. medius* y 0.111 en *C. robalito*) resultaron mayores al promedio de 0.055 ± 0.036 de heterocigosis esperada reportado por Smith y Fujio (1982) para 106 especies de teleósteos marinos y semi-catádomos y cuyos valores más altos fueron para especies tropicales y subtropicales de amplia distribución, ambas características presentes en los robalos estudiados. También resultan superiores al promedio que Gyllensten (1985) reporta tanto para especies marinas (0.063) como anádromas

(0.043) y dulceacuícolas (0.041) y a los promedios que Ward y colaboradores (1994) obtienen: de 0.064 para especies marinas, de 0.057 para especies anádromas y 0.062 para dulceacuícolas. Asimismo, los valores resultaron ampliamente superiores a las reportadas por Tringali y colaboradores (1996 y 1999) para las especies de robalos del atlántico: *Centropomus undecimalis* (0.025), *Centropomus parallelus* (0.079), *Centropomus pectinatus* (0.06), y *Centropomus ensiferus* (0.05). En este contexto las heterocigosis promedio de las tres especies son moderadamente altos en comparación con otros robalos y otras especies marinas. Resulta destacable el hecho de que se presente una diferencia moderada entre las especies de robalos reportadas por Tringali y colaboradores (1996 y 1999) y los encontrados en este trabajo pues es posible que el uso premeditado de enzimas potencialmente polimórficas para nuestro estudio pudiera provocar una sobreestimación de la variación. Sin embargo las estimaciones de diversidad genética de dichos autores pueden haber sido también sobreestimadas debido a que la enzima GPI, que es la que hace el mayor aporte al promedio, solamente presentara variación importante en un locus en nuestro análisis, mientras que aparentemente fue considerado con dos loci polimórficos para las especies *C. viridis* y *C. robalito* por Tringali y colaboradores (1996, 1999) debido a una posible confusión en la interpretación de bandas resultantes de la combinación de loci causada por la constitución dimérica de la enzima.

Las heterocigosis estimadas con RAPD's resultan predeciblemente superiores, tanto por la mayor resolución que se le atribuye a la técnica (Lynch y Milligan, 1994; Dowling *et al.*, 1996), como por la aplicación del criterio que consiste en utilizar para el análisis únicamente las bandas cuya frecuencia en la población sea mayor a $3/N$ (N = número de individuos de la muestra) de manera que al manejar muestras de alrededor de 20 individuos todas las bandas deberían tener una frecuencia superior a 0.15. Eso significa que todas aquellas bandas cuya frecuencia resultó menor a 0.15 no fueron incluidas en el análisis. Dichas bandas presentaban heterocigosis esperadas (asumiendo necesariamente equilibrio de Hardy-Weinberg) de 0.225 o menores. La exclusión de un conjunto de valores de heterocigosis pequeños provoca que el promedio sea mayor al que resultaría si dichas bandas fueran incluidas en el análisis.

Al comparar la heterocigosis obtenida mediante RAPD's entre las tres especies, la tendencia resultó similar a la de las heterocigosis obtenidas mediante isoenzimas salvo el caso de *Centropomus robalito*.

La comparación de los datos de polimorfismo y heterocigosis entre poblaciones sustenta la afirmación de que la población de Sinaloa es la que tiene los mayores índices de variación en las tres especies (tabla 3.2). Dicha afirmación también es corroborada por la presencia de la mayor heterocigosis esperada en *C. viridis* obtenida con RAPD's.

Asumiendo que el esfuerzo de pesca aplicado sobre las poblaciones muestreadas a lo largo del litoral del Pacífico es más o menos similar, es posible suponer que los estados que tienen mayores capturas también tienen la mayor abundancia de organismos y como se puede ver en la figura 1.2, la producción se concentra en dos principales regiones que podrían corresponder a núcleos poblacionales importantes: el de la región Sinaloa-Nayarit y el de Oaxaca-Chiapas. Desgraciadamente la carencia de datos específicos de producción por especie no nos permite conocer la producción real de cada especie en las distintas entidades (SEMARNAP, 2000). La variabilidad (heterocigosis y polimorfismo), es máxima en Sinaloa disminuyendo ligeramente hacia Nayarit y encontrando los menores niveles en Guerrero en *Centropomus viridis*. *Centropomus robalito* muestra una tendencia semejante aunque en la población de Oaxaca hay un repunte de diversidad y polimorfismo. En el caso de *C. medius* la diversidad y el polimorfismo detectados en Guerrero resultan similares a los de Nayarit pero ambos son ampliamente menores a los de Sinaloa. Por tanto podemos afirmar que alrededor de Mazatlán (Sinaloa) se encuentra la principal fuente de variación en las 3 especies de robalos coincidiendo probablemente con los núcleos poblacionales más abundantes que aprovechan las condiciones de físicas favorables como temperatura y disponibilidad de cuerpos de agua dulce.

5.1.2 Divergencia poblacional

Se puede afirmar que existe divergencia poblacional significativa entre las poblaciones de las especies *Centropomus viridis* y *Centropomus medius* aunque los valores de los estadísticos F obtenidos con isoenzimas sean pequeños o no significativos en *C. viridis*, pues los valores de significancia obtenidos por la prueba exacta de diferenciación poblacional son muy pequeños, tanto en el análisis simultáneo para todas las poblaciones como en los análisis entre pares de poblaciones en cada una de estas dos especies. Adicionalmente el análisis de RAPD's arrojó valores positivos de θ en ambos casos (aunque con un valor bajo en *C. medius*), y una amplia significancia de la prueba exacta, como en el caso de las isoenzimas. La poca concordancia entre los estadísticos F obtenidos con isoenzimas y los obtenidos con RAPD's, podría deberse a las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg detectados en los loci polimórficos de las enzimas peptidasas y PGM. En contraparte un exceso de los mismos es aportado por el locus polimórfico de la GPI (en cada caso) de manera que la diversidad de una población está fuertemente influida por la mayor o menor presencia de variación en estas enzimas. Lo que implica un sesgo importante en la estimación de la variación pues las enzimas peptidasas, la GPI y la PGM son prácticamente las únicas que presentaron variación. Debido a que los estadísticos F modificados y estandarizados por Weir y Cockerham

(1984) hacen un uso explícito de las frecuencias alélicas y las heterocigosis observadas, las anomalías detectadas en estos loci pudo haber influido en su estimación.

Las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg se presentaron siempre como déficit de heterocigotos en las enzimas peptidasas y como exceso en el locus más variable de la GPI. Esta deficiencia podría deberse a la presencia de alelos nulos (Hedrick, 2000), a algún tipo de interacción epistático dominante entre genes (Ayala y Kiger, 1989) a la endogamia (Hedrick, 2000), o a la acción de selección natural disruptiva (peptidasas y PGM) y balanceadora (GPI; Hedrick, 2000). La presencia de alelos nulos es poco común y difícil de detectar. La endogamia es un factor que podría estar presente aunque es improbable que afecte de manera tan intensa como para provocar las desviaciones observadas pues la fecundación de los huevecillos de los robalos es en el mar donde los gametos de todos los organismos de la población se entremezclan al azar. La selección disruptiva actuando sobre las enzimas peptidasas y la PGM o sobre algún gen cercanamente ligado a estos es una hipótesis interesante pues el déficit de heterocigotos se detectó con mucha mayor intensidad en la población de Sinaloa que en el resto de las poblaciones (en las tres especies). Dicha población, además, fue la única en registrar desequilibrio de ligamiento significativo para más de dos loci lo que podría ser una evidencia de que la selección natural está operando sobre las enzimas analizadas o sobre algún gen cercanamente ligado. La selección natural, además, representa una fuerza evolutiva importante que no solo propicia la divergencia poblacional sino que además permite mantener la heterogeneidad entre poblaciones.

Por otro lado las poblaciones de *C. robalito* no presentan diferenciación poblacional detectable con isoenzimas ni con RAPD's ya que en ambos casos la prueba exacta arrojó probabilidades mayores a 0.05 de que las diferencias encontradas se deban al azar (tablas 4.10, 4.11 y 4.18).

En el caso de *C. viridis* las distancias genéticas y los árboles construidos a través de éstas, y la presencia de núcleos de abundancia en el norte y el sur son indicativo de la presencia de un núcleo poblacional o "stock" en Sinaloa (alrededor de Mazatlán), otro en Nayarit y otro en Guerrero-Oaxaca. Sin embargo, el flujo génico entre estas poblaciones no está del todo restringido. En el caso de las distancias genéticas estimadas con RAPD's, éstas resultan menores entre Guerrero y Sinaloa que entre Nayarit y Sinaloa. En el caso de *C. medius* las distancias génicas son más congruentes con la geografía, es decir, son mayores entre poblaciones alejadas y menores entre poblaciones vecinas. *C. robalito* no presenta un patrón discernible lo que podemos atribuir a la ausencia de estructura genética y por lo tanto a un flujo génico mantenido entre sus poblaciones.

La relativamente poca abundancia de las especies *C. medius* y *C. viridis* y el tamaño de sus individuos pueden ayudar a explicar los resultados obtenidos, pues sus poblaciones son más susceptibles a cambios por deriva génica (Ayala y Kiger, 1989) que las poblaciones de mayor

tamaño de *C. robalito*. El flujo génico tendría más poder homogeneizador si hubiera mayor cantidad de migrantes efectivos (sin importar el tamaño efectivo de la población), pues si la cantidad de organismos que migran guarda una proporción similar con respecto al tamaño de la población en organismos similares, entonces los organismos numerosos intercambiarían más migrantes (Slatkin, 1991). Aunque la deriva es una fuerza poco importante en poblaciones grandes, la constante actividad pesquera que se refleja en una disminución en el tamaño de poblaciones aunada a factores naturales podría ser una causa de diferenciación (Smith, 1996). De hecho las enormes fluctuaciones en la producción de robalos de un año a otro son un reflejo de crecimiento y disminución considerables en el tamaño de las poblaciones de robalos. Con la información actual no es posible determinar si los alelos presentes en la población de Sinaloa en *Centropomus viridis* y *Centropomus medius* son los residuos de alelos mucho más abundantes en el pasado que desaparecieron en las demás poblaciones o si son mutantes relativamente nuevos que aparecieron en la población de Sinaloa y aumentaron su frecuencia por deriva génica (o quizás por selección) y con el transcurso del tiempo han sido exportadas a las demás poblaciones. Las bajas frecuencias de estas variantes y la dificultad de que la supuesta variación ancestral desapareciera en todas las demás poblaciones excepto en la de Sinaloa y que muchas variantes aparezcan casi exclusivamente en una población hace más factible a la segunda hipótesis en la que no sólo la población de Sinaloa aporta alelos nuevos sino posiblemente también un núcleo poblacional situado al sur de Guerrero y Oaxaca (Chiapas es un estado importante de producción robalera, SEMARNAP, 2000; figura 1.2).

Existe una discrepancia entre la ubicación geográfica de las localidades muestreadas y las distancias genéticas presentadas entre éstas. En los árboles generados mediante UPGMA con las distancias genéticas de las poblaciones de *C. viridis* y *C. medius* generados con datos de isoenzimas (figuras 4.2 y 4.4) encontramos cierta coherencia con la geografía, aunque resulta poco congruente con la aparente cercanía genética entre las muestras de Los Mochis-Sonora y las de Nayarit y Guerrero-Oaxaca, lo cual puede deberse al limitado número de muestras analizadas de Los Mochis-Sonora que probablemente impidió detectar alelos que se encontraban en frecuencias bajas. Pero con los árboles generados a partir de información de RAPD's la situación cambia: tanto en *C. medius* como en *C. viridis* encontramos que la distancia genética entre Sinaloa y Guerrero-Oaxaca parece ser más estrecha que con el resto de las poblaciones. El Análisis de Varianza Molecular tampoco proporciona claridad al respecto pero sustenta marginalmente las estructuras genéticas sugeridas por los árboles generados con distancias genéticas pero también con F_{ST} en ambas especies. En *C. viridis* sin embargo el AMOVA presentó un mayor respaldo a la estructura genética que excluye a la población de Sinaloa del resto, esto debido al ya mencionado nivel de variación genética que ostenta y que rebasa ampliamente al de las demás poblaciones.

Respecto a la incongruencia entre geografía y estructura poblacional, una causa posible podría ser la aparición relativamente reciente de variación originada en una población, pues cuando dos poblaciones presentan un locus que es monomórfico para ambas el índice de identidad genética entre ellas será mayor (es decir, se parecerán más sus frecuencias) que si se comparan con una tercera que presente algunos alelos mutantes “nuevos”, aún si esta tercera población geográficamente se encuentra localizada entre las otras dos.

Por otra parte, en el análisis de isoenzimas las desviaciones de las heterocigosis observadas respecto a los valores esperados en el conjunto de todas las poblaciones de *C. viridis* y *C. medius* son significativamente diferentes a las esperadas bajo los supuestos de Hardy-Weinberg y mayores a las desviaciones promedio de cada una de las poblaciones como se esperaría debido al efecto Wahlund en una población subdividida reproductivamente. Sin embargo el déficit de heterocigotos de la población de Sinaloa, en ambas especies es mayor al de todo el conjunto. De manera que la población de Sinaloa, se distingue del resto por los elevados niveles de variación y por el déficit de heterocigosis.

Sin embargo, las restricciones al flujo génico y los complejos patrones que la escasa migración presente entre las poblaciones de *C. viridis* y *C. medius*, se deben más a factores ambientales que poblacionales. Las restricciones al flujo génico que podrían existir entre las poblaciones de *C. viridis* y *C. medius* podrían deberse al fuerte vínculo de los adultos con los cuerpos de agua dulce o salobre. Las áreas ocupadas por los adultos no son las mismas que las ocupadas por las larvas y los prejuveniles (Muhlía Melo *et al.*, 1995). En base a la similitud en morfología, filogenia y aspectos biológicos, podemos asumir que las especies estudiadas *C. viridis* y *C. medius* probablemente presentan comportamientos similares a los observados en estudios sobre el desove y las etapas preadultas hechos en *C. undecimalis* y otras especies del Golfo de México. Chávez (1963) y Fuentes Castellanos (1973) reportan que en el Golfo de México organismos de las especies *Centropomus poeyi*, *Centropomus parallelus*, *Centropomus pectinatus* y *Centropomus undecimalis* migran desde los ríos o aguas continentales hasta el mar para desovar en sitios poco profundos no alejados de la costa, preferentemente frente a la desembocadura de los ríos o cerca de los cuerpos de agua continentales. De esta manera, las larvas y prejuveniles con toda probabilidad ingresan al mismo cuerpo de agua dulce del que provinieron sus progenitores. Por otro lado los adultos preferentemente permanecen en las lagunas costeras o cuerpos de agua dulce. Sin embargo, una o dos veces al año migran al mar para desovar y permanecen allí durante un tiempo después del cual regresan a los cuerpos de agua dulce (Muhlía Melo *et al.*, 1995). Esto impone una importante barrera al flujo génico entre poblaciones de robalos que habitan cuerpos de agua dulce o salobre distantes entre si. El tiempo posterior al desove, en que los adultos permanecen en el mar sería la

única oportunidad de migración a otras regiones. Sin embargo también es posible que los robalos emprendan migraciones hacia el mar por factores externos como la temperatura pues se ha observado que los cambios bruscos en la temperatura influyen en los robalos, propiciando movimientos hacia el mar abierto, hacia las costas o a los cuerpos de agua dulce. De esta manera, intensos cambios históricos en la temperatura pudieron provocar en el pasado migraciones inusuales de robalos hacia el mar e incluso a lo largo de la costa dependiendo de la dirección en la que se encontraran las condiciones más favorables de aguas cálidas. Estas migraciones inusuales pudieron constituir un aporte extraordinario de genes que podrían ser otra causa de la aparente inconsistencia entre los patrones de distancias genéticas observados y la ubicación geográfica de las poblaciones.

La realización de estudios de orden demográfico permitirían contrastar la información existente y complementar el esquema de la dinámica poblacional de los robalos. Dicha información sería fundamental para la actividad pesquera a fin de diferenciar debidamente los “stocks” o unidades poblacionales. Adicionalmente la acuicultura es una alternativa que puede beneficiarse más de estudios como el presente, toda vez que proporcionan datos acerca de la diversidad genética y su ubicación así como de la subdivisión poblacional, de tal manera que hace posible recurrir selectivamente a las poblaciones naturales para proveer de variabilidad “fresca” que contrarreste los efectos negativos de la endogamia y el tamaño pequeño de progenitores que se encuentran en un cultivo.

A su vez en el contexto biológico es posible comparar los datos obtenidos con los de otras especies e integrar un esquema integral que permita comprender mejor la dinámica y magnitud de la variación genética en las poblaciones naturales de peces demersales.

6. Conclusiones

Las tres especies analizadas de robalos del Pacífico mexicano, muestran niveles de variabilidad elevados (particularmente las heterocigosis esperadas) comparados con organismos del mismo género y con otros peces dulceacuícolas y marinos.

Los niveles de diversidad de *C. robalito* están fuertemente influenciados por un solo locus hipervariable: el *gpi-1**.

Los mayores índices de variabilidad genética isoenzimática y de RAPD's pueden ser encontrados en las poblaciones de Sinaloa en *Centropomus viridis*, *Centropomus nigrescens* y *Centropomus robalito*. Los niveles de variabilidad de dichas poblaciones superan ampliamente a los de las otras poblaciones en heterocigosis observada, heterocigosis esperada y polimorfismo.

única oportunidad de migración a otras regiones. Sin embargo también es posible que los robalos emprendan migraciones hacia el mar por factores externos como la temperatura pues se ha observado que los cambios bruscos en la temperatura influyen en los robalos, propiciando movimientos hacia el mar abierto, hacia las costas o a los cuerpos de agua dulce. De esta manera, intensos cambios históricos en la temperatura pudieron provocar en el pasado migraciones inusuales de robalos hacia el mar e incluso a lo largo de la costa dependiendo de la dirección en la que se encontraran las condiciones más favorables de aguas cálidas. Estas migraciones inusuales pudieron constituir un aporte extraordinario de genes que podrían ser otra causa de la aparente inconsistencia entre los patrones de distancias genéticas observados y la ubicación geográfica de las poblaciones.

La realización de estudios de orden demográfico permitirían contrastar la información existente y complementar el esquema de la dinámica poblacional de los robalos. Dicha información sería fundamental para la actividad pesquera a fin de diferenciar debidamente los “stocks” o unidades poblacionales. Adicionalmente la acuicultura es una alternativa que puede beneficiarse más de estudios como el presente, toda vez que proporcionan datos acerca de la diversidad genética y su ubicación así como de la subdivisión poblacional, de tal manera que hace posible recurrir selectivamente a las poblaciones naturales para proveer de variabilidad “fresca” que contrarreste los efectos negativos de la endogamia y el tamaño pequeño de progenitores que se encuentran en un cultivo.

A su vez en el contexto biológico es posible comparar los datos obtenidos con los de otras especies e integrar un esquema integral que permita comprender mejor la dinámica y magnitud de la variación genética en las poblaciones naturales de peces demersales.

6. Conclusiones

Las tres especies analizadas de robalos del Pacífico mexicano, muestran niveles de variabilidad elevados (particularmente las heterocigosis esperadas) comparados con organismos del mismo género y con otros peces dulceacuícolas y marinos.

Los niveles de diversidad de *C. robalito* están fuertemente influenciados por un solo locus hipervariable: el *gpi-1**.

Los mayores índices de variabilidad genética isoenzimática y de RAPD's pueden ser encontrados en las poblaciones de Sinaloa en *Centropomus viridis*, *Centropomus nigrescens* y *Centropomus robalito*. Los niveles de variabilidad de dichas poblaciones superan ampliamente a los de las otras poblaciones en heterocigosis observada, heterocigosis esperada y polimorfismo.

Dicha población (Sinaloa) también presenta la mayor deficiencia de heterocigosis y la mayor cantidad de loci en desequilibrio de ligamiento en las especies *C. medius* y *C. robalito*.

Las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg probablemente sean debidas a selección natural lo que prepresenta un factor más de diferenciación.

Se detectó divergencia poblacional significativa en las especies *Centropomus medius* y *Centropomus viridis*; ambas menos abundantes que *Centropomus robalito*.

C. robalito no presentó ningún indicio de tener divergencia genética entre sus poblaciones.

No existe aparente relación entre las distancias genéticas y la ubicación geográfica de las poblaciones de *C. viridis* ni de *C. robalito*, en este último presumiblemente por la ausencia de diferenciación significativa entre poblaciones. Por lo que no se corroboró existencia de *aislamiento por distancia*.

Es probable que la población de Sinaloa sea proveedora de variantes alélicas a las demás poblaciones, situación que podría explicar en parte el patrón de distancias genéticas poco concordante con la ubicación y separación geográfica de las localidades analizadas.

La diferenciación poblacional podría estar asociada al ciclo de vida de los robalos y a su fuerte asociación con cuerpos de agua dulce entre otros factores.

Se recomienda emprender nuevos estudios que aborden los aspectos genéticos y de dinámica poblacional para poder reglamentar la pesca del robalo.

7. Bibliografía

- Allendorf, F. W. , Ryman, N., y F. M. Utter, 1987. Genetics and fishery management: past, present and future. En: Population genetics and fishery management. Editado por: N Ryman y F. Utter. University of Washington Press, Seattle, Wash. Pp 1-19.
- Amezcuca Linares, F., 1996. "Peces Demersales de la Plataforma Continental del Pacífico Central de México". ICMYL, UNAM, CONABIO, 1a edición, México. 184 p.
- Ayala, F. J., y J. A. Kiger Jr., 1989. Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano. México, Bogota, Caracas, Santiago, San Juan, Panamá. 836 p.
- Bórquez A. y V. C. Ronzani, 1998. Feeding behavior in juvenile snook, *Centropomus undecimalis*. *Aquaculture*, 169: 25-35.
- Carvalho, G. R. y L. Hauser, 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 4: 326-350.
- Chávez, H., 1963. "Contribución al conocimiento de la biología de los robalos chucumite y constantino (*Centropomus spp.*) del estado de Veracruz (Pisces: Centropomidae)". *Ciencia*. 22(5): 141-161.

Dicha población (Sinaloa) también presenta la mayor deficiencia de heterocigosis y la mayor cantidad de loci en desequilibrio de ligamiento en las especies *C. medius* y *C. robalito*.

Las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg probablemente sean debidas a selección natural lo que prepresenta un factor más de diferenciación.

Se detectó divergencia poblacional significativa en las especies *Centropomus medius* y *Centropomus viridis*; ambas menos abundantes que *Centropomus robalito*.

C. robalito no presentó ningún indicio de tener divergencia genética entre sus poblaciones.

No existe aparente relación entre las distancias genéticas y la ubicación geográfica de las poblaciones de *C. viridis* ni de *C. robalito*, en este último presumiblemente por la ausencia de diferenciación significativa entre poblaciones. Por lo que no se corroboró existencia de *aislamiento por distancia*.

Es probable que la población de Sinaloa sea proveedora de variantes alélicas a las demás poblaciones, situación que podría explicar en parte el patrón de distancias genéticas poco concordante con la ubicación y separación geográfica de las localidades analizadas.

La diferenciación poblacional podría estar asociada al ciclo de vida de los robalos y a su fuerte asociación con cuerpos de agua dulce entre otros factores.

Se recomienda emprender nuevos estudios que aborden los aspectos genéticos y de dinámica poblacional para poder reglamentar la pesca del robalo.

7. Bibliografía

- Allendorf, F. W. , Ryman, N., y F. M. Utter, 1987. Genetics and fishery management: past, present and future. En: Population genetics and fishery management. Editado por: N Ryman y F. Utter. University of Washington Press, Seattle, Wash. Pp 1-19.
- Amezcuca Linares, F., 1996. "Peces Demersales de la Plataforma Continental del Pacífico Central de México". ICMYL, UNAM, CONABIO, 1a edición, México. 184 p.
- Ayala, F. J., y J. A. Kiger Jr., 1989. Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano. México, Bogota, Caracas, Santiago, San Juan, Panamá. 836 p.
- Bórquez A. y V. C. Ronzani, 1998. Feeding behavior in juvenile snook, *Centropomus undecimalis*. *Aquaculture*, 169: 25-35.
- Carvalho, G. R. y L. Hauser, 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 4: 326-350.
- Chávez, H., 1963. "Contribución al conocimiento de la biología de los robalos chucumite y constantino (*Centropomus spp.*) del estado de Veracruz (Pisces: Centropomidae)". *Ciencia*. 22(5): 141-161.

- Chung, K. S.**, 1981. "Critical Thermal Maxima of Some Tropical Fishes of the Northeastern Venezuela". 573-589. *En*: S. Gómez-Aguirre. Memorias VII Simposio Latinoamericano sobre Oceanografía Biológica. 15-19 nov.1981.757 p.
- Cushing, D. H.**, 1980. Marine Ecology and Fisheries. Cambridge University Press. Londres, Nueva York Nueva Rochelle, Melbourne, Sydney. 278 p.
- Del Angel, L.E.A., Rodríguez, P.C., Mendoza, G.E.G., y R. L.Creswell** (eds), 1998. Cultivo del robalo blanco *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1729) en estanques rusticos de manto freatico en la Isla del Carmen, Campeche, Mexico. *Proc. Gulf Car. Fish. Ins.*, 50: 513-523.
- Dinesh, K. R. Lim, T. M. Chua, K. L., Chan, W. K. y V. P. E. Phang**, 1993. RAPD analysis: An Efficient Method of DNA Fingerprinting in Fishes. *Zoological Science*,10: 849-854.
- Donaldson, K. A. y R. R. Wilson Jr.**, 1999. Amphi-Panamic Geminates of Snook (Percoidei: Centropomidae) Provide a Calibration of the Divergence Rate in the Mitochondrial DNA Control Region of Fishes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13(1): 208-213.
- Dowling, T. E., Moritz, C., Palmer, J. D. y L. H. Rieseberg**, 1996. Chapter 8: Nucleic Acids III: Analysis of Fragments and Restriction Sites. 249-320 p. *En*: Hillis, M. D., Moritz, C. y K. B. Mable (eds.). Molecular Systematics. 2ª ed. Sinaur Associates Inc., Sunderland. U.S.A. 655 p.
- Excoffier, L., Smouse, P. y J. Quattro**, 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- FAO.** Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico Centro-Oriental. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Vol. II, Parte 1: 987-995. Roma. 1995.
- Fraser, T. H.**, 1968. Comparative osteology of the atlantic snooks (Pisces: *Centropomus*). *Copeia* 1968: 433-460.
- Fuentes Castellanos, D.**, 1973. Contribución al conocimiento de la biología del robalo prieto (Pisces: *Centropomus poeyi* Chávez) en el área de alvarado, Veracruz, México. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 37: 369-421.
- Green, Y. A.**, 1993. Ictioplanton del canal Agua Dulce, estero Huizache-Caimanero, Sin. Tesis de maestría. CICIMAR/IPN. 68 p.
- Greenwood, P. H.**, 1976. "A Review of the Family *Centropomidae* (Pisces: Perciformes)". *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.)* 29(1):1-81.
- Gyllensten, U.** 1985. The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous, and freshwater species. *J. Fish Biol.* 26:691-699.
- Haldane, J. B. S.**, 1954. An Exact test for randomness of mating. *Journal of Genetics* 8:299-309.

- Hedrick, P. W.**, 2000. Genetics of Populations. 2a. Ed. USA. 552 p.
- Howells, R.G., Sonski, A.J., Shafland, y B.D. Hilton**, 1990. "Lower Temperature Tolerance of Snook, *Centropomus undecimalis*". *North. Gulf Sci.* 11(20):155-158.
- Iversen, E. S. y K. K. Hale**, 1992. Aquaculture Sourcebook: A guide to North American Species. 182-183. AVI Book, V. Nostrand Reinhold, 308 p.
- Johnson, , G. D.**, 1984. "Percoidei: Development and Relationships". 464-498. *En*: H. G. Moser, W. J. Richards, D. M. Cohen, M. P. Fahay, A. W. Kendall Jr., S. L. Richardson (eds). Ontogenia and systematics of Fishes. Publication Special in American Society of Ichthyologists and Herpetologists.
- Jiménez Valdez, M.**, 1984. Contribución al conocimiento de la biología de los robalos (Centropomidae) de la Laguna Sontecomapan, Ver. Tesis Lic. ENEP Iztacala, UNAM. 64 p.
- Keenan, C.P. y J. B. Shaklee**, 1985. Electrophoretic identification of raw and cooked fish fillets and other marine products. *Food Technol. Aust.*, 37(3): 117+vp.
- Koenig, C. C., Coleman, F. C., Collins, L. A., Sadovy, Y. y P.L. Colin**, 1996. Reproduction in gag, *Mycteroperca microlepis* (Pisces: Serranidae) in the eastern Gulf of México and the consequences of fishing spawning aggregations. 307-323. *En*: Arreguín Sánchez, F., Munro, J. L., Balguns, M. C. y D. Pauly, (eds.), Biology, fisheries and culture of tropical groupers and snappers. ICLARM, Conference Proceedings 48, Manila.
- Lynch, M. y B. G. Milligan**, 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* 3:91-99.
- Mantel, N.**, 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27: 209-220.
- McGovern, J. C., Wyanski, D. M., Pashuk, O., Manooch III C. S. y G. R. Sedberry**, 1998. Changes in the sex ratio and size at maturity of gag, *Mycteroperca microlepis* from the Atlantic coast of the southeastern United States during 1976-1995. *Fishery Bulletin* 96: 797-807.
- Miller, M. P.**, 1998. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author.
- Mooi, R. D. y A. C. Gill.**, 1995. Association of epaxial musculature with dorsal-fin pterygiophores in acanthomorph fishes, and its phylogenetic significance. *Bull. Nat. Hist. Mus. Lond. (Zool.)* 62: 121-137.
- Moritz, C. y D. M. Hillis**, 1996. Molecular systematics: Context and Controversies. *En*: Hillis, M. D., Moritz, C. y K. B. Mable (eds.). Molecular Systematics. 2ª ed. Sinaur Associates Inc., Sunderland. U.S.A. 655 p.
- Muhlia Melo, A., Arvizu Martínez, J., Rodríguez Romero, J., Guerrero Tortolero, D., Gutiérrez Sánchez, F. J. y A. Muhlia Almazán**, 1995. Sinopsis de información

biológica, pesquera y acuacultural acerca de los robalos del género *Centropomus* en México. Programa de Evaluación de Recursos Naturales del Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S. C. Volumen Especial. 52 p.

- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nelson, J. S. 1994. Fishes of the world. 3rd. ed. (332-333) New York: J. Wiley y Sons. 600 p.
- NOAA., 1999. El Niño- Southern Oscillation Home Page, In: <http://www.ogp.noaa.gov/enso/>
- Nomura, H., 1985. Present status of coastal aquaculture in Brazil. Proceeding of the Symposium on Coastal Aquaculture Held at Cohin. Part 3: Finfish Culture, 1985, pp. 707-717.
- Pasteur, N., G. Pasteur, F. Bonhomme, J. Catalan y J. Britton Davidian, 1988. Practical isozyme genetics. Ellis Horwood Books in the Biological Sciences. New York, 217 p.
- Pereira, J.A., Santos, G.A.C., Macedo, S.J. y M. F. A. Santana, 1997. Monoculture of the common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) in pond-net, Pernambuco (Brazil). *Trab. Oceanogr. Univ. Fed. Pernambuco*, vol. 25: 71-78.
- Raymond, M. L. y F. Rousset, 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283.
- Reynolds, J. , Weir, B. S. y C. C. Cockerham, 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767-779.
- Rivas, L. R. 1986. Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia* 3: 579-611.
- Roberts, S. B., Jackson, L. F. y W. V. King, 1999. Annual Reproductive of the Common Snook; endocrine Correlates of Maturation. *Trans.Am. Fish. Soc.* 128: 436-445.
- Schneider, S., Roessli, D. y L. Excoffier, 2000. Arlequin ver. 2.000: A software for population genetic data analysis. Genetics and biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Selander, R. K., Lang, R. H., Yang, S. Y. Jonson, W. E. y J. B. Gentry, 1971. IV. Biochemical polymorphism and systemics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse. *Studies in Genetics VI*. Univ. Texas Pub. 7103: 49-74.
- SEMARNAP, 2000. Anuario estadístico de Pesca. Estadísticas por: Especies, volumen en peso vivo, destino, origen (por estados), valor comercial y litoral: de los años: 1979-1999 Subsecretaría de pesca. En: <http://www.semarnap.gob.mx/sspesca/anua>
- Shafland, P. L. y K. J. Foote, 1983. "A Lower Temperature for Fingerling Snook, *Centropomus undecimalis*". *North. Gulf Sci.* 6 (2): 175-177.
- Shaklee, J.B., Allendorf, F.W., Morizot, D.C., y G. G. Whitt, 1990. Gene nomenclature for

- protein-coding loci in fish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 119(1): 2-15.
- Shaw, C. R. y R. Prasad**, 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes- A compilation of recipes. *Biochemical Genetics*, 4: 297-320.
- Slatkin, M.**, 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47(1): 264-279.
- Slatkin, M.**, 1994. Linkage disequilibrium in growing and stable populations. *Genetics*, 137: 331-336.
- Smith, P. J.**, 1996. La diversidad genética de los recursos pesqueros marinos: posibles repercusiones en la pesca. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 344. Roma. 59 p.
- Smith, P. J. y Y. Fujio**, 1982. Genetic variation in marine teleosts: high variability in habitat specialists and low variability in habitat generalists. *Marine Biology*, 69: 7-20.
- Sokal, R.**, 1979. Testing statistical significance of geographic variation patterns. *Systematic Zoology*, 28: 227-232.
- Sokal, R. y F. J. Rohlf**. 1995. Biometry. 3rd edition. W.H. Freeman and Co., New York.
- Swofford, D. L. y G. J. Olsen**. 1990. Phylogeny Reconstruction. En: Hillis, D.M. and C. Moritz (eds). *Molecular Systematics*. Sinaur Associates Inc., Sunderland.
- Taylor, R. G., Grier, H. J. y J. A. Whittington**, 1998. Spawning rhythms of common snook in Florida. *J. Fish Biol.*, 53: 502-520.
- Thorpe, J.P., Solé-Cava, A. M. y P. C. Watts**, 2000. Exploited marine invertebrates: genetics and fisheries. *Hydrobiologia*, 420:165-184.
- Tolley, S.G. y E. B. Peebles**, 1998. Decay of diel patterns of swimming activity in juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*) maintained in captivity. *Bull. Mar. Sci.*, 62(1): 275-283.
- Tringali, M. D. y T. M. Bert**, 1996. The genetic stock structure of common snook (*Centropomus undecimalis*). *Can. J. Fis. Aqu. Sci.*, 53: 924-984.
- Tringali, M. D., Bert, T. M., Seyoum, S., Berminham, E. y D. Bartolacci**, 1999. Molecular Phylogenetics and Ecological Diversification of the Transisthmian Fish Genus *Centropomus* (Perciformes: Centropomidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 13(1): 193-207.
- Ward, R. D.**, 2000. Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*, 420: 191-201.
- Ward, R. D., Woodwark, M. y D. O. F. Skibinski**, 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *J. Fish Biol.*, 44: 213-232.
- Ward, R. D. y P. M. Grewe**, 1994. Appraisal of molecular genetic techniques in fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 4: 300-325.
- Weir, B. S. y C. C. Cockerham**, 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population

structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.

Wilson, R. R., Donaldson, K. A., Frischer, M. E. y T. B. Young, 1997. Mitochondrial DNA Control Region of Common Snook and Its Prospect for Use as a Genetic Tag. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 126: 594-606.

Apéndice I

Soluciones de tinción de isoenzimas

GOT

Glutamato oxalacetato transaminasa E. C. 2.6.1.1

Piroxidal 5'-fosfato	0.5 mg
Ácido L-aspártico	200 mg
Ácido α -cetoglutárico	100 mg
Sal de azul rápido BB	150 mg
0.2 M Tris HCl, pH 8.0 *	50 mL

GPI

Glucosa fosfato isomerasa E. C. 5.3.1.9

0.2 M Tris HCl, pH 8.0	30 mL
Sol. 0.1 M $MgCl_2$	10 mL
Fructuosa-6-fosfato	4 mL
Sol. (10 U/mL) G-6-Pdh (glucosa-6-fosfato deshidrogenasa)	1 mL
Sol. (10mg/mL) NAD (nicotin-adenin dinucleótido)	1.5 mL
Sol. (10mg/mL) MTT (tetrazolium) *	1 mL
Sol. (10mg/mL) PMS (fenazín metosulfato) *	0.5 mL

α -GPD

α -Glñicerofosfato deshidrogenasa E. C. 1.1.1.8

0.2 M Tris HCl, pH 8.0	45 mL
DL- α -Glñicerofosfa to	650 mg
Ácido pirúvico	200 mg
Sol. NAD	2 mL
Sol. 0.1 M $MgCl_2$	1 mL
S. MTT *	0.5 mL
S. PMS *	0.5 mL

ICD

Isocitrato deshidrogenasa E. C. 1.1.1.42

0.2 M Tris HCl, pH 8.0	50 mL
Sol. 0.1 M $MgCl_2$	3 mL
Sol. 0.1 M ácido isocítrico	3 mL
Sol. (10mg/mL) NADP (nicotin-adenin dinucleótido fosfato)	1 mL
Sol. (10mg/mL) NBT (nitro blue tetrazolium)	0.5 mL
Sol. PMS *	0.5 mL

LA, LGG, PAP

Peptidasas

Leucina-alanina E. C. 3.4.11.1;

Leucina-glicina-glicina E. C. 3.4.11.4;

Fenilalanina-prolina E. C. 3.4.11.5

LA (L-leucina-L-alanina)	40 mg
LGG (L-leucina-glicina-glicina)	40 mg
PAP (Fenilalanina-prolina)	80 mg

Veneno de vívora (Snake Venom)	10 mg
Peroxidasa	20 mg
O-dianisidina	10 mg
0.2 M Tris HCl, pH 8.0 *	50 mL

LDH

Lactato deshidrogenasa E. C. 1.1.1.27

0.2 M Tris HCl, pH 8.0	40 mL
Ácido DL-láctico	9 mL
Sol. NAD	2 mL
Sol. NBT *	0.5 mL
Sol. PMS *	0.5 mL

MDH

Malato deshidrogenasa E. C. 1.1.1.37

0.2 M Tris HCl, pH 8.0	40 mL
Sol. 2 M ácido málico	5 mL
Sol NAD	1 mL
Sol. NBT *	2 mL
Sol. PMS *	0.5 mL

6PGD

6-Fosfogluconato deshidrogenasa E. C. 1.1.1.44

0.2 M Tris HCl, pH 8.0	5 mL
Sol. 0.1 M MgCl ₂	5 mL
Ácido 6-fosfogluconico	10 mg
Sol. NADP *	0.1 mL
Sol. MTT *	0.4 mL
Sol. PMS *	0.1 mL

PGM

Fosfoglucomutasa E. C. 2.7.5.1

0.2 M Tris HCl, pH 8.0	5 mL
H ₂ O (destilada desionizada)	45 mL
Sol. 0.1 M MgCl ₂	5 mL
Sol. (10mg/mL) α -D-glucosa-1-fosfato	2 mL
Sol. (10mg/mL) α -D-glucosa-1,6-difosfato	3 mL
Sol. (10 U/mL) G-6-Pdh (glucosa-6-fosfato deshidrogenasa)	1 mL
Sol. MTT *	1 mL
Sol. PMS *	1 mL

*** Los reactivos marcados con un asterisco deben agregarse inmediatamente antes de ser al gel.**