

00344

/



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTRUCTURA GENÉTICA, VARIACIÓN ISOENZIMÁTICA Y
MORFOLOGÍA DE TRES POBLACIONES DE *Macrobrachium* spp DE
VERACRUZ Y TABASCO, MÉXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA DE SISTEMAS Y RECURSOS ACUÁTICOS)

P R E S E N T A
BIOL. MAR. ELIANA PAOLA ACUÑA GÓMEZ

L

DIRECTOR DE TESIS: DR. FERNANDO ALVAREZ NOGUERA



MÉXICO, D.F.

2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedico el esfuerzo y el fruto de este trabajo interminable a:

Mi Abuela Delfina (†), por dejarte ir sin darte un beso y sin cumplir mi promesa de estar contigo en Navidad.

Mis padres y hermano: Walter, Eliana y Walter Guillermo, por hacer como que el tiempo y la distancia no importan. Por comprender tantas promesas de viaje incumplidas.

Mi esposo Rafael, por permitirme irrumpir en su vida con este proyecto interminable.

Mis cachorros Rafo y Camilo, por robarles tiempo valioso. Por soportar mi mal humor. Porque muchas veces cuando el cansancio era extremo les grité para que me obedecieran en vez de pedirles que me entendieran y me dejaran estudiar.

Todos ustedes, no saben cuantos les agradezco su apoyo y comprensión.

AGRADECIMIENTOS

Cuando se me otorgó la beca Presidente de la República de Chile, siendo estudiante de pregrado, recibí una carta que me notificaba la adjudicación del beneficio y una nota que contenía una "pequeña reflexión":

"La obtención de esta beca te distingue de modo especial entre los estudiantes de todo Chile. No se trata solo de una ayuda material. Mas que eso, te honra moral e intelectualmente. Pero al mismo tiempo te obliga ante la sociedad toda de tu pueblo".

Al correr de los años mantuve la beca incluso para hacer este postgrado en México. Y sólo estando aquí comprendí el sentido, la responsabilidad, el tremendo compromiso y la presión de esa "pequeña reflexión". Hoy después de muchos años agradezco al Gobierno de mi país, la oportunidad que me ha brindado y la confianza en mi persona haciendo entrega de mi escrito de tesis, mi certificado de graduación y mi infinito agradecimiento.

Agradezco a la Agencia de Cooperación Internacional (AGCI), especialmente a Marcela Sotolillo y Adriana del Pozo por todas sus atenciones, sus consejos y el tiempo dedicado a calzar mi estancia en México de la mejor manera posible. Agradezco a Silvia Galvez su comprensión y su paciencia al esperar, esperar y esperar mi regreso a Chile, con mi acta de graduación.

Agradezco infinitamente al Instituto Antártico Chileno (INACH) por patrocinar mi beca. Especialmente a Don Antonio Mazzei Fernandez ^(†) quien como director subrogante del Instituto en el año 1995 aceptó sin miramientos dicho patrocinio.

Agradezco a Anelio Aguayo y Daniel Torres, mis jefes directos en el Instituto Antártico, por las oportunidades que me han dado de trabajar con ellos en aventuras hermosas y emocionantes, en las que me he realizado como Biólogo Marino. Pero, principalmente, les agradezco el "apechugar" conmigo en aventuras que no han sido nada hermosas.

Aquí en México, agradezco con todo cariño a Rafael Sánchez Tabla, Paloma Ladrón de Guevara, Mario Salinas, Silvia Porras, Gabriel Ladrón de Guevara, Irene Barriga, Dagoberto Rentería, María Villarroel, Gerardo Hiriart. Al ex Embajador de Chile en México Sr. Carlos Portales, a Eliana Merlett, Al ex y al actual Cónsul de Chile en México Sres. Sergio Verdugo y Julio Fiol y a Cristina Caballero su apoyo incondicional para ayudarme a

defender mi integridad moral en todo momento, les agradezco su confianza y el regalarme su amistad y compañía.

Agradezco, con todo cariño a Valeria Souza y Luis Eguiarte por adoptarme en su laboratorio, apapacharme y ayudarme en mi búsqueda de un nuevo laboratorio y director de tesis.

Agradezco a Fernando Alvarez por ayudarme a dar vuelta a una página triste en mi vida estudiantil, aceptándome en el laboratorio de Carcinología como su estudiante de postgrado, sin hacer más preguntas.

Ya incorporada al Laboratorio de Carcinología del Instituto de Biología agradezco al Dr. Fernando Alvarez: todas las facilidades prestadas para el desarrollo de mi tesis; por decir: "sí a todo", siempre que le he pedido algo, por permitir que los estudiantes desarrollemos nuestra creatividad e iniciativa, por confiar en sus estudiantes, por ser estricto y enojarse cuando ha sido necesario. Pero, principalmente, le agradezco por ser una persona muy accesible, por darse tiempo en pensar lo que alguien le plantea, por aceptar y reconocer que ha cambiado de opinión, por querer que las cosas salgan bien para todos, gracias Fernando.

Agradezco a mi amigo José Luis Villalobos tantos momentos vividos juntos. Tiempo de salidas al campo, de estudio, de trabajo de laboratorio, la convivencia de momentos alegres y los no tanto... Gracias por no olvidar los cumpleaños de ninguno de nosotros, por querernos y por ser tan buena gente.

A Rolando Mendoza (El Rolex), por facilitar mi trabajo al poner a mi disposición su don para la elaboración de muchas de las figuras.

Ahora quiero agradecer a decenas de amigos e investigadores que estuvieron prestos a ayudarme en el desarrollo de mi tesis. Fernando Alvarez, Pepe Villalobos, Rafael Robles y Rafael Sánchez Tabla, por ayudarme a capturar los langostinos necesarios para este trabajo. Fernando, Pepe, Yolanda, Carmelita, María Elena, Katya, Sandra, Juanito, Rafael, Rolex, José Juan, Olga, Lulú, Lupita, Toño y Horacio, compañeros del laboratorio de Carcinología, por tantos momentos juntos y por soportar mi buen y mal humor.

En el laboratorio de Evolución Molecular y Experimental de los Dres. Luis Eguiarte y Valeria Souza, les agradezco a ellos el estar siempre respaldando y mejorando cada avance de mi trabajo, por prestarme su laboratorio, asignarme tiempo y reactivos para el estudio electroforético; a Aldo Valera por compartir sus conocimientos y su valioso tiempo ayudándome con la electroforesis de las enzimas, a Claudia, Toño, Erika, Arturo y Martita por compartir sus conocimientos y su espacio de trabajo.

Agradezco a la Dra. América Castañeda porque desinteresadamente aportó conocimientos importantes en la técnica de electroforesis en acetatos de celulosa.

Al Dr. Cesar Domínguez y a los integrantes del Laboratorio de Interacción Planta - Animal del Instituto de Ecología, por darme todas las facilidades posibles para desarrollar la parte morfométrica de ésta investigación. A mi amigo Raúl Alcalá, por enseñarme y supervisar estas técnicas, dedicando muchas horas de su tiempo.

Al Laboratorio de Microscopía Electrónica del Instituto de Biología por permitirme el uso del microscopio y a Sara le agradezco por su paciencia en la búsqueda de espinulillas en las espinulas de las espinas de las cerdas de los apéndices masculinos.

Al doctor Efraín de Luna del Instituto de Ecología, A.C., de Jalapa, por orientarme en el análisis estadístico de la forma de los langostinos y por alentarme a seguir en el aprendizaje de los métodos matemáticos aplicados a problemas biológicos.

A mi esposo Rafael Sánchez Tabla por revisar y corregir duramente el primer manuscrito de tesis, antes de que nadie lo leyera.

Al comité tutorial: Dres. Fernando Alvarez, Luis Eguiarte, Valeria Souza, Ignacio Mendez, Ramiro Román, Virginia León y Elva Escobar, por darse tiempo para revisar el manuscrito de tesis, por sus valiosas aportaciones, por su confianza y por el interés mostrado por mi trabajo.

A mis amigos: Dr. Juan Nuñez Farfan y a la Dra. Erika Aguirre por dedicarme todo el tiempo del mundo ayudándome en las correcciones de los doctores Eguiarte y Sousa.

En estos años ha sido muy importante la amistad, el cariño y los buenos momentos compartidos con amigos muy preciados que con su amistad y amabilidad han hecho más llevadero el desarrollo de mi trabajo como mi estancia lejos de casa. Me es grato agradecer a mi suegra por su constante apoyo afectuoso y material. A la familia Morales Guillaumín por hacernos sentir: uno de ellos, a Amalia y Anelio Aguayo por querernos a los cuatro como sus hijos. A los entrañables Erika y Lalo, y a sus hijas Emilia y Regina Morales Aguirre; a mis queridos amigos Laura y Jesús y sus hijos Daniela, Mario y Emilio Aguirre Malfabón; a Raúl y Gabriela Arredondo y a Jesús Ayala por tantas reuniones familiares alegres y felices. Agradezco por su amistad, cariño y comprensión a: Amelia Díaz, Alejandro Serrano, Enrique Paz, Jorge Esparza, Carmen Tornero, Tito Villalobos, María Villarreal e Irene Barriga.

Finalmente, infinitas gracias a Rafael mi esposo por su prudencia, a Rafita por su nobleza y a Camilo por su audacia. A los tres les agradezco los momentos alegres llenos de risas, muchas risas y más risas compartidas.

Resumen

Se investigó la estructura genética, ultraestructura y morfometría de tres poblaciones de langostinos del género *Macrobrachium*, las que se caracterizan por presentar desarrollo abreviado y distribución puntual. Hay que destacar que una de estas poblaciones es el primer registro de langostinos epígeos con tales características para México y América del Norte, recientemente descrita como *Macrobrachium tuxtlaense*, proveniente del arroyo las Margaritas, Catemaco, Veracruz. Las otras poblaciones fueron denominadas como *Macrobrachium* sp. 1, del Arroyo Santiaguillo, en Santiago Tuxtla, Veracruz y *Macrobrachium* sp. 2, del Arroyo San Antonio, Tabasco.

La finalidad de este estudio es responder a la interrogante de si estamos frente a varias nuevas especies epígeas de langostinos con desarrollo abreviado para México o si estas son poblaciones de una nueva especie o poblaciones en proceso de especiación. Para responderla se ha propuesto encontrar evidencia utilizando diferentes aproximaciones.

En primer lugar se determinó la variación y la estructura genética de las poblaciones mediante electroforésis en acetatos de celulosa, analizando ocho loci enzimáticos. Para las tres poblaciones de desarrollo abreviado los estimadores de variación genética fueron altos y el número promedio de alelos por locus fluctuó entre 1.75 y 2.62. Los niveles de heterocigosidad y polimorfismo fueron altos principalmente para las poblaciones de *M. tuxtlaense* ($H_s = 0.248$) y *Macrobrachium* sp. 2 ($H_s = 0.371$) con un polimorfismo del 75.0% en ambos casos mientras que *Macrobrachium* sp. 1 presentó una $H_s = 0.096$ y $P = 37.5\%$.

El análisis de la estructura genética de las poblaciones se hizo a partir de las frecuencias alélicas y genotípicas con los estadísticos F de Wright y las distancias genéticas de Nei. Los resultados indican que las poblaciones tienen un alto porcentaje de homocigos, lo que puede deberse, principalmente, a la endogamia local. También se observa diferenciación genética entre las poblaciones y la variación genética observada se encuentra más entre las poblaciones que dentro de ellas. Lo anterior está representado en los altos valores promedio de $F_{is} = 0.5339$, $F_{it} = 0.7717$ y $F_{st} = 0.5101$, para las tres poblaciones. El promedio de distancia genética entre las poblaciones es de 0.3999, el dendrograma resultante indica que las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1 son más cercanas en cuanto a distancia genéticamente que la población de *Macrobrachium* sp. 2.

En segundo lugar, se realizó un estudio de ultraestructura de las cerdas apicales del apéndice masculino, mediante microscopía electrónica de barrido. Los resultados indican que éste atributo es categórico, especie específico y constante en cada una de las poblaciones estudiadas. Así, los machos de *Macrobrachium tuxtlaense* presentan cuatro cerdas apicales y los de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 presentan tres y cinco cerdas apicales, respectivamente.

La tercera aproximación fue un estudio morfométrico para 37 caracteres y 12 proporciones. Se estimó el coeficiente de variación de los caracteres y las proporciones, se hizo un análisis de varianza, un análisis multivariado de componentes principales y discriminante canónico, los que revelaron que las poblaciones están diferenciadas tanto por sitio como por sexo.

Para tener un punto de comparación de los resultados obtenidos en cada aproximación, se realizaron los mismos tres estudios para cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus*, especie cercana al complejo anterior, pero con desarrollo completo y distribución continua.

Como conclusión de los resultados obtenidos, tanto en el ámbito genético, de ultraestructura y morfométrico, se puede establecer que existe evidencia suficiente, para proponer que las tres poblaciones epígeas de *Macrobrachium*, con desarrollo abreviado y distribución puntual estudiadas, podrían tratarse como especies diferentes y nuevas para México.

Introducción General	1
Objetivos Generales	14

Capítulo I

La Estructura genética de las Poblaciones	15
---	----

1. Introducción	15
1.1 Genética de poblaciones y Evolución.....	15
1.2 Equilibrio Hardy-Weinberg	16
1.3 Fuerzas evolutivas	17
1.4 Variación genética	19
1.5 Isoenzimas y electroforesis	20
1.6 Estructura genética de poblaciones	21
1.7 Estimadores usados en genética de poblaciones.....	21
1.7.1 Variación genética.....	21
1.7.2 Coeficiente de endogamia.....	22
1.7.3 Estadísticos F de Wright.....	23
1.7.4 Distancia e identidad genética.....	25
1.8 Genética poblacional en crustáceos.....	27
Objetivos particulares.....	30
Hipótesis de trabajo.....	30
2. Materiales y métodos	30
2.1 Recolecta del material biológico	31
2.2 Separación del tejido blando	33
2.3 Electroforesis en acetatos de celulosa	34
3. Resultados	36
3.1 Variación Isoenzimática y frecuencias alélicas.....	36
3.2 Variación genética	43
4. Discusión	67

Capítulo II

Ultraestructura del apéndice masculino

1. Introducción	74
1.1 Microscopía electrónica	74
Objetivos particulares	77
2. Materiales y métodos	78
2.1 Identificación del sexo	78
2.2 Ultraestructura del apéndice masculino mediante MEB	78
2.3 Presentación de resultados.....	80
3. Resultados	80
4. Discusión	102

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Capítulo III
Variación Morfométrica

1.	Introducción	104
	Objetivos particulares.....	107
2.	Materiales y métodos	107
2.1	Análisis de tamaño	107
2.2	Calibración del error de medición	110
2.3	Análisis estadístico de los datos	111
2.3.a	Estadísticos descriptivos	111
2.3.b	Análisis de varianza	111
2.3.c	Análisis de variación entre especies	111
2.3.d	Análisis de agrupamiento.....	112
2.4	Análisis de forma	112
3.	Resultados	113
3.1	Obtención de Imágenes	113
3.2	Error de medición	114
3.3	Análisis estadístico de los datos	116
3.3.a	Estadístico descriptivos	116
3.3.b	Coefficiente de variación	121
3.3.c	Análisis de varianza	125
3.3.d	Análisis de variación entre especies	129
3.4	Análisis morfológico	139
4.	Discusión	144
	Discusión final	148
	Conclusiones	153
	Literatura citada	157
	Anexos	167

Listado de Figuras

Figura 1	Distribución del género <i>Macrobrachium</i> en 21 estados de la República Mexicana	4
Figura 2a	<i>Macrobrachium acanthurus</i> , especie de desarrollo completo, dependiente de la salinidad	6
Figura 2b	Hembra ovígera de <i>Macrobrachium</i> sp. de desarrollo completo, con cientos de huevecillos.....	6
Figura 3a	<i>Macrobrachium villalobosi</i> , especie cavernícola de desarrollo abreviado	8
Figura 3b	<i>Macrobrachium viconni</i> especie epigea con desarrollo abreviado.....	8
Figura 4a	Arroyo las Margaritas de Catemaco, San Andrés Tuxtla, Veracruz. Lugar de recolecta de <i>M. tuxtlaense</i>	10
Figura 4b	Río Perlas, Ocosingo Chiapas. Lugar de recolecta de <i>M. viconni</i>	10
Figura 5a	Esquema de <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> , proveniente del Arroyo las Margaritas de Catemaco, San Andrés Tuxtla, Veracruz.....	12
Figura 5b	Esquema de <i>Macrobrachium</i> sp. 1 proveniente del Arroyo Santiaguillo, Santiago Tuxtla, Veracruz	13
Figura 5c	Esquema de <i>Macrobrachium</i> sp. 2, provenientes del Balneario San Antonio, San José Las Choapas, Tabasco	13
Figura 6	Mapa de la ubicación geográfica de las siete poblaciones de <i>Macrobrachium</i> estudiadas	32
Figura 7	Separación de los distintos tejidos y estructuras para los análisis correspondientes	33
Figura 8	Zimogramas de los distintos sistemas enzimáticos estudiados	38
Figura 9	Fenograma para las siete poblaciones del género <i>Macrobrachium</i> estudiadas, tomando como caracteres la presencia/ausencia de alelos. Método de Parsimonia.....	52
Figura 10	Dendrograma de las distancias de Nei (1978), para las siete poblaciones del género <i>Macrobrachium</i> estudiadas	56
Figura 11	Análisis de aislamiento por distancia, para tres poblaciones de <i>Macrobrachium</i> con desarrollo abreviado	57
Figura 12	Análisis de aislamiento por distancia, para las cuatro poblaciones de <i>Macrobrachium acanthurus</i> estudiadas	57
Figura 13	Análisis de aislamiento por distancia para las siete poblaciones del género <i>Macrobrachium</i> estudiadas	58
Figura 14	Esquema del apéndice masculino, en el género <i>Macrobrachium</i>	79
Figura 15	Apéndice masculino en ejemplares de <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> , del Arroyo Las Margaritas, Catemaco, Veracruz, México	88
Figura 16	Apéndice masculino en ejemplares de <i>Macrobrachium</i> sp.1 del Arroyo Santiaguillo, Veracruz, México	90
Figura 17	Apéndice masculino en ejemplares de <i>Macrobrachium</i> sp.2 del Arroyo San Antonio, Tabasco, México	92
Figura 18	Apéndice masculino en ejemplares de <i>Macrobrachium acanthurus</i> de la Laguna de Sontecomapan, Veracruz, México	94
Figura 19	Apéndice masculino en ejemplares de <i>Macrobrachium acanthurus</i> de Montepío, Veracruz, México	96
Figura 20	Apéndice masculino en ejemplares de <i>Macrobrachium acanthurus</i> de la Laguna de Alvarado, Veracruz, México	98
Figura 21	Apéndice masculino en ejemplares de <i>Macrobrachium acanthurus</i> de la Laguna Horizonte, Tabasco, México	100

Figura 22	Fenograma para las siete poblaciones del género <i>Macrobrachium</i> , tomando como caracteres los atributos del apéndice masculino. Método de Parsimonia	87
Figura 23a	Esquema de los puntos digitalizados en las imágenes laterales del caparazón	108
Figura 23b	Esquema de los puntos digitalizados en las imágenes dorsales del segundo pereiópodo	109
Figura 23c	Esquema de los puntos digitalizados en las imágenes laterales del segundo pereiópodo	109
Figura 24	Gráfica del Coeficiente de variación (CV) para los caracteres y proporciones morfométricas estudiadas en <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> , comparando ejemplares machos y hembras	122
Figura 25	Gráfica del Coeficiente de variación (CV) para los caracteres y proporciones morfométricas estudiadas en <i>Macrobrachium</i> sp. 1, comparando ejemplares machos y hembras	123
Figura 26	Gráfica del Coeficiente de variación (CV) para los caracteres y proporciones morfométricas estudiadas en <i>Macrobrachium</i> sp. 2, comparando ejemplares machos y hembras	124
Figura 27	Componentes principales para las tres poblaciones de <i>Macrobrachium</i> , con desarrollo abreviado, estudiadas	131
Figura 28	Factores principales del análisis discriminante, por sitio, para las tres poblaciones de <i>Macrobrachium</i> , con desarrollo abreviado estudiadas	135
Figura 29	Factores principales del análisis discriminante, por sexo, para las tres poblaciones de <i>Macrobrachium</i> , con desarrollo abreviado estudiadas	135
Figura 30	Agrupamiento de las siete poblaciones de langostinos estudiadas, estilo UPGMA a partir de los 37 caracteres morfométricos	137
Figura 31	Fenograma para las siete poblaciones del género <i>Macrobrachium</i> estudiadas, construido a partir de la caracterización de presencia /ausencia de 37 caracteres morfométricos. Método de parsimonia.....	138
Figura 32a	Imagen consenso del caparazón, de cada una de las poblaciones de desarrollo abreviado (línea recta)	140
Figura 32b	Imagen consenso del caparazón, de cada una de las poblaciones de desarrollo abreviado (línea curva)	141
Figura 33a	Imagen consenso de la quela, sin dedo móvil, de cada una de las poblaciones de desarrollo abreviado (línea recta)	142
Figura 33b	Imagen consenso de la quela, sin dedo móvil, de cada una de las poblaciones de desarrollo abreviado (línea curva)	143

Listado de Tablas

Tabla I.	Especies del género <i>Macrobrachium</i> para México	3
Tabla II.	Algunos estimadores de variación genética reportados para crustaceos decápodos	29
Tabla III.	Localidades, ubicación geográfica y tamaño de muestra de las siete poblaciones en estudio	31
Tabla IV.	Enzimas, amortiguadores de corrida, ph, tiempos y voltajes utilizados para los estudios electroforéticos	37
Tabla V.	Alelos presentes en las siete poblaciones en estudio. La población (1) corresponde a <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> , la (2) a <i>Macrobrachium</i> sp. 1, la (3) a <i>Macrobrachium</i> sp. 2 y desde la (4-7) a <i>Macrobrachium acanthurus</i> de las distintas localidades	45
Tabla VI.	Variación genética en cuatro poblaciones de <i>Macrobrachium acanthurus</i> , una de <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> y dos de <i>Macrobrachium</i> spp. de Veracruz y Tabasco, México	47
Tabla VII.	Porcentaje de alelos compartidos (Ac), entre las distintas poblaciones de <i>Macrobrachium</i> , con desarrollo abreviado (1-3) y con desarrollo extendido (4-7)	50
Tabla VIII.	Distancias geográficas, en kilómetros entre las siete poblaciones estudiadas	51
Tabla IX.	Frecuencias alélicas, por locus, para las siete poblaciones en estudio.....	53
Tabla X.	Distancia genética de Nei (1978), para las siete poblaciones estudiadas	55
Tabla XI.	Índice de fijación (F), por loci para cada población estudiada. Los (*) indican los valores significativos con $p < 0.05$	62
Tabla XII.	Valores de Fis, para las siete poblaciones estudiadas que incluyen cuatro poblaciones de <i>Macrobrachium acanthurus</i> una de <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> y dos de <i>Macrobrachium</i> spp. Los valores con (*) son significativos con $p < 0.05$	63
Tabla XIII.	Valores de Fit, para las siete poblaciones estudiadas que incluyen cuatro de <i>Macrobrachium acanthurus</i> una de <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> y dos de <i>Macrobrachium</i> spp. Los valores con (*) son significativos con $p < 0.05$	64
Tabla XIV.	Valores de Fst, para las siete poblaciones estudiadas que incluyen cuatro de <i>Macrobrachium acanthurus</i> una de <i>Macrobrachium tuxtlaense</i> y dos de <i>Macrobrachium</i> spp. Los valores con (*) son significativos con $p < 0.05$	65
Tabla XV.	Resumen de los estimadores de variación genética obtenidos en este estudio	66
Tabla XVI.	Tabla comparativa de las características del apéndice masculino de los ejemplares de cada una de las poblaciones estudiadas	86
Tabla XVII.	Porcentaje de error de medición (EM) asociado a cada carácter morfométrico	115
Tabla XVIII.	Estadísticos descriptivos para la longitud total de machos y hembras de las poblaciones de <i>Macrobrachium</i> con desarrollo abreviado.....	117
Tabla XIX.	Estadísticos descriptivos para 37 caracteres, medidos para ejemplares machos y hembras de la población de <i>Macrobrachium tuxtlaense</i>	118
Tabla XX.	Estadísticos descriptivos para 37 caracteres, medidos para ejemplares machos y hembras de la población de <i>Macrobrachium</i> sp.1.....	119

Tabla	XXI.	Estadísticos descriptivos para 37 caracteres, medidos para ejemplares machos y hembras de la población de <i>Macrobrachium</i> sp.2	120
Tabla	XXII.	Tabla resumen del análisis de varianza inter e intrapoblacional, que incluye a las tres poblaciones de <i>Macrobrachium</i> con desarrollo abreviado	128
Tabla	XXIII.	Muestra el resultado del análisis de componentes principales, para las poblaciones de <i>Macrobrachium</i> con desarrollo abreviado.....	129
Tabla	XXIV.	Caracteres asociados a los tres primeros componentes principales para las poblaciones de <i>Macrobrachium</i> , con desarrollo abreviado	130
Tabla	XXV.	Caracteres asociados al análisis de función discriminante, para las tres poblaciones de <i>Macrobrachium</i> , con desarrollo abreviado	133
Tabla	XXVI.	Clasificación, por localidad, del total de los ejemplares de <i>Macrobrachium</i> de desarrollo abreviado, mediante análisis discriminante	134
Tabla	XXVII.	Clasificación, por sexo, del total de los ejemplares de <i>Macrobrachium</i> de desarrollo abreviado, mediante análisis discriminante	134

Listado de Anexos

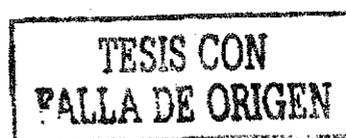
Anexo	1.	Recetas de los sistemas amortiguadores utilizados en el análisis electroforético	167
Anexo	2.	Recetas de las enzimas utilizadas en el análisis electroforético.....	168
Anexo	3.	Gráficas del análisis de varianza	170

Introducción General

México es considerado un país megadiverso debido a su ubicación geográfica, a la interacción de las regiones biogeográficas neártica y neotropical y por su heterogeneidad de hábitats, producto de la intrincada topografía de su territorio (Toledo, 1988). Características que, en el caso particular de los crustáceos dulceacuícolas, han favorecido la formación y el establecimiento de un elevado número de especies (Villalobos *et al.* , 1993).

La historia geológica y el clima pasado y actual de México, han sido factores claves tanto en la dispersión de las especies como en los procesos de especiación que han sufrido estos invertebrados, tal vez desde el Mesozoico tardío, cuando en la configuración del relieve mexicano empezaron a aparecer cadenas montañosas como la Sierra Madre Oriental y Occidental y el Eje Neovolcánico, así como la extensa planicie central, delimitada por las cordilleras recién formadas (Cantú *et al.*, 1991). Estos levantamientos orográficos, así como los que posteriormente ocurrieron en el sur de México, entre los que se destacan la emersión de la península de Yucatán y la formación de las cadenas montañosas en el Estado de Chiapas, han sido las principales causas del intrincado patrón de distribución geográfico que presentan muchos géneros de decápodos dulceacuícolas (Villalobos, 1982).

Los crustáceos decápodos, en general, presentan cinco pares de pereiópodos, articulados a la región torácica, de éstos, los tres primeros pares pueden o no estar quelados. Tienen un cefalotórax que cubre las somitas cefálicas y torácicas y un abdomen que se extiende, distalmente, para terminar en los urópodos y el telson (Álvarez y Villalobos, 1997). Los patrones reproductivos difieren marcadamente entre especies marinas y dulceacuícolas; en éstas últimas, las posibilidades de dispersión son reducidas debido a la naturaleza discontinua, y en ocasiones efímera de los cuerpos de agua, por lo que hay especies que presentan desarrollo abreviado o directo, con producción de pocos huevos de gran tamaño y provistos de mucho vitelo y estadios juveniles que tienden a permanecer cerca de su lugar de origen. El patrón de



estas modificaciones es uno en el que la variación geográfica y la especiación son comunes, debido al reducido flujo génico entre poblaciones. Por este aislamiento espacial, las únicas oportunidades que dichas poblaciones tienen para invadir nuevas áreas y establecer contacto con poblaciones previamente aisladas, son los eventos catastróficos como inundaciones, cambios en el curso de los ríos o movimientos terrestres, (Álvarez y Villalobos, 1997).

Entre la vasta fauna carcinológica mexicana se encuentra la familia Palaemonidae, que incluye a organismos marinos y dulceacuícolas (Holthuis, 1952) Morfológicamente se caracterizan por tener un cuerpo alargado y comprimido lateralmente, por presentar los dos primeros pares de pereiópodos quelados; el segundo par es más grande que el primero y su carpo no se encuentra subdividido; rostro con espinas y las mandíbulas casi siempre tienen un proceso incisivo (Camacho *et al.*, 1997). La familia Palaemonidae está integrada por tres subfamilias: Euryrhynchinae, Pontoniinae y Palaemoninae. La mayoría de los géneros que incluye la subfamilia Palaemoninae habitan en ambientes dulceacuícolas en estado adulto y se caracterizan por tener una pleurobranquia en el tercer maxilípodo y presentar, en el margen posterior del telson, dos pares de espinas y uno o más pares de cerdas (Villalobos, 1982). Sin lugar a dudas, el género más relevante de esta subfamilia es *Macrobrachium*, cuyas especies son conocidas comúnmente como: “acamayas”, “camarones de río”, “cauque”, “chacales”, “pigüas” o “langostinos”, dependiendo de la especie que se trate, de su ubicación geográfica y de las estructuras particulares que presenten. El género se caracteriza por presentar un palpo mandibular con tres articulaciones, dactilos de los últimos tres pares de pereiópodos simples, presencia de una espina hepática y ausencia de espina branquiostegal (Holthuis, 1993).

Estos crustáceos representan un interesante material de estudio tanto por el elevado número de especies que lo integran, su amplia distribución geográfica y diversificación, así como por la biología de los organismos y la importancia económica de algunas especies (Villalobos, 1982). Se han reportado alrededor de 175 especies y subespecies del género *Macrobrachium*

en el mundo (Chace y Bruce, 1993). En el continente Americano se encuentran a lo largo de ambas vertientes, desde el nivel del mar hasta altitudes cercanas a los 1500 msnm, altitud que en la mayoría de los casos implica una penetración en las cuencas fluviales de varios centenares de kilómetros. Sobre la vertiente Atlántica se distribuyen desde Florida hasta el norte de Argentina. A través de la vertiente del Pacífico, desde la península de Baja California hasta Ecuador (Chace y Bruce, 1993). En México, se han reportado quince especies (Tabla I), distribuidas en 21 estados de la República Mexicana (Fig. 1). Además del “langostino malayo”, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man), el cual es una especie introducida, siendo la más estudiada y de mayor interés comercial. Once de estas especies tienen desarrollo extendido y sólo *Macrobrachium villalobosi*, *M. acherontium*, *M. tuxtlaense* y *M. vicconi* presentan desarrollo abreviado.

Tabla I. Especies del género *Macrobrachium* reportadas para México.

Vertiente Pacífica	Vertiente Atlántica
<i>M. acanthochirus</i> Villalobos, 1966	<i>M. carcinus</i> Linnaeus, 1758
<i>M. tenellum</i> Smith, 1871	<i>M. heterochirus</i> Wiegmann, 1836
<i>M. michoacanus</i> Nates y Villalobos, 1990	<i>M. hobbsi</i> Nates y Villalobos, 1990*
<i>M. digueti</i> Bouvier, 1895	<i>M. olfersii</i> Wiegmann, 1836 *
<i>M. americanum</i> Bate, 1868	<i>M. acherontium</i> Holthuis, 1977 **
<i>M. occidentale</i> Holthuis, 1950	<i>M. villalobosi</i> Hobbs, 1973 **
<i>M. hobbsi</i> Nates y Villalobos, 1990	<i>M. acanthurus</i> Wiegmann, 1836
<i>M. olfersii</i> Wiegmann, 1836*	<i>M. tuxtlaense</i> Villalobos y Alvarez, 1999
	<i>M. vicconi</i> Román et al., 2000

* Especies vicariantes, se distribuyen en ambas vertientes.

** Especies que viven en cavernas con desarrollo abreviado

GENES CON
FALSA ORIGIN

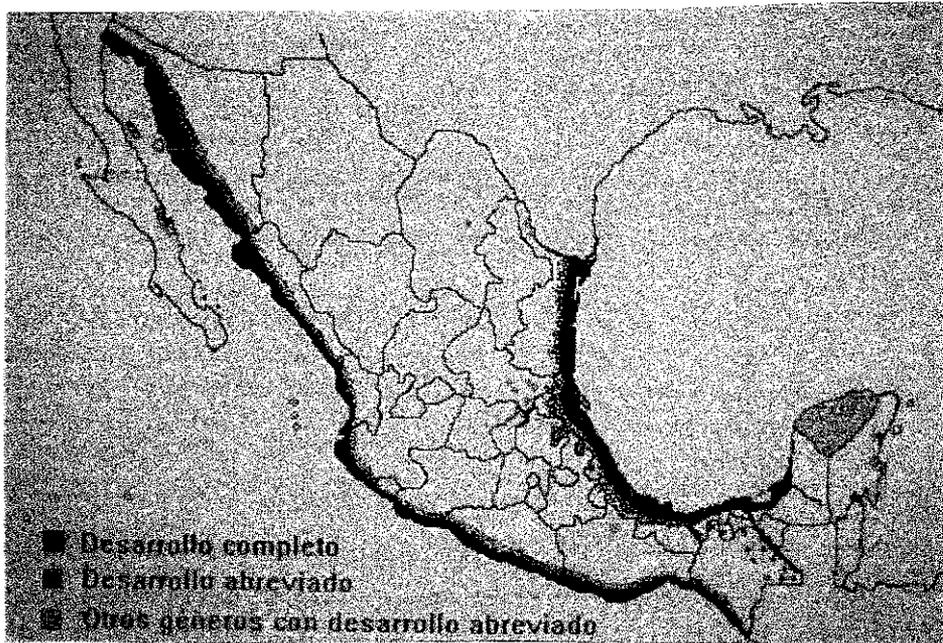


Fig. 1 Distribución del género *Macrobrachium* en 21 estados de la República mexicana.

Dentro de la controversia que ha significado el origen del género *Macrobrachium*, Villalobos (1967a) consideró a *Macrobrachium olfersii* como el tronco original de este complejo faunístico y lo llamó “El grupo *olfersii*”, por una serie de rasgos característicos que, más o menos modificados, son el denominador común del grupo. Esta especie se distribuye por todos los sistemas hidrológicos de la vertiente Atlántica, desde el norte de Tamaulipas, México, hasta el sur de Brasil; así como muy cerca del litoral Pacífico, donde pudo establecerse gracias a las condiciones topográficas e hidrográficas del Istmo de Tehuantepec. La presencia de especies afines al grupo, que pueblan la costa pacífica, lleva a pensar en una antigua dispersión del tronco original a través del Istmo de Tehuantepec, hasta establecerse en la costa oriental de la península de Baja California, teniendo tales especies tiempo suficiente para evolucionar en forma independiente.

Villalobos (1982) reportó la presencia de especies vicariantes a ambos lados del Continente Americano, especies que quedaron separadas definitivamente al levantarse el Istmo de Panamá. Si ésta barrera centroamericana se estableció en el Mioceno (Jordan, 1908) o en el Plioceno (Mayr, 1946), las poblaciones originales ubicadas en las vertientes Atlántica y Pacífica, imposibilitadas de intercambio genético tuvieron la oportunidad de evolucionar de manera independiente pero no al grado de adquirir rasgos específicos que permitan diferenciarlas morfológicamente.

Villalobos (1982) considera que las especies de *Macrobrachium* en Mesoamérica se han establecido básicamente en tres tipos de hábitat. En las partes altas de los ríos hasta 1500 m, en donde las corrientes son rápidas, las aguas cristalinas y templada, con temperaturas de hasta 23 °C y concentraciones de oxígeno son altas (6 a 7 ml/L), podemos encontrar permanentemente especies como *M. carcinus*, *M. americanum*, *M. acanthochirus* y *M. occidentale*. En las partes bajas de las cuencas hidrográficas, con corrientes lentas, aguas entre turbia y clara, temperaturas de 23 a 26 °C y oxígeno disuelto de 4 a 5 ml/L, aparecen *M. acanthurus* y *M. tenellum*. En las aguas lénticas de las lagunas costeras, que se caracterizan por presentar temperaturas entre 26 y 28 °C, con salinidades de hasta 15 ppm, turbias y con concentraciones de oxígeno de 3 a 5 ml/L, son el tipo de ambiente en donde podemos encontrar a la mayoría de las especies, sobre todo en los primeros estadios de su ciclo biológico hasta la fase juvenil, en la que remontan a los ríos hasta llegar a las partes altas donde se reproducen. Las hembras ovígeras de algunas especies migran hacia las partes bajas de los ríos para liberar a las larvas, iniciando así un nuevo ciclo.

Los aspectos biológicos de las especies citadas para México (Tabla I), excepto *Macrobrachium villalobosi*, *Macrobrachium acherontium*, *Macrobrachium tuxtlaense* y *Macrobrachium viconni* convergen en características comunes para el grupo por ejemplo: todas las especies producen cientos de pequeños huevos (de 0.04 a 0.07 mm de diámetro) por puesta, presentan desarrollo larval extendido con 10 a 12 etapas larvarias, habitan en extensas áreas de

distribución (mayores de 3,000 km de costa) y tienen una dependencia estricta de salinidades moderadas y altas en las zonas litorales, para el desarrollo de la postlarva hasta el estado juvenil (Fig. 2a y b).

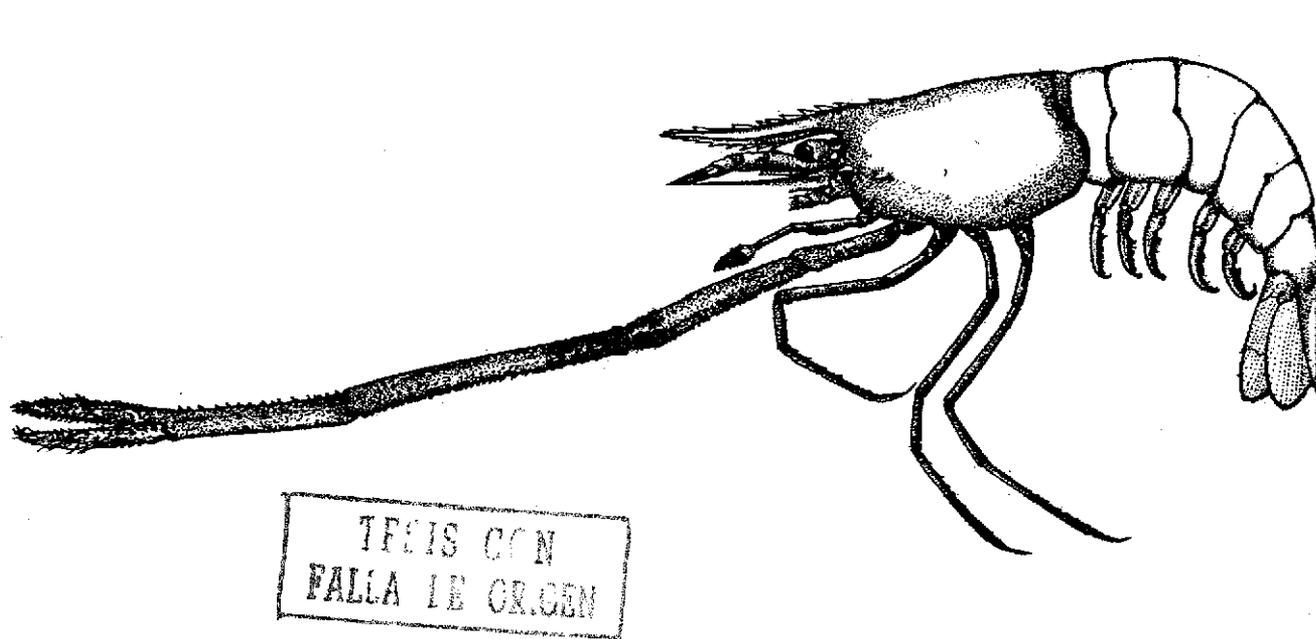


Fig. 2a. *Macrobrachium acanthurus*, especie de desarrollo completo, dependiente de la salinidad.

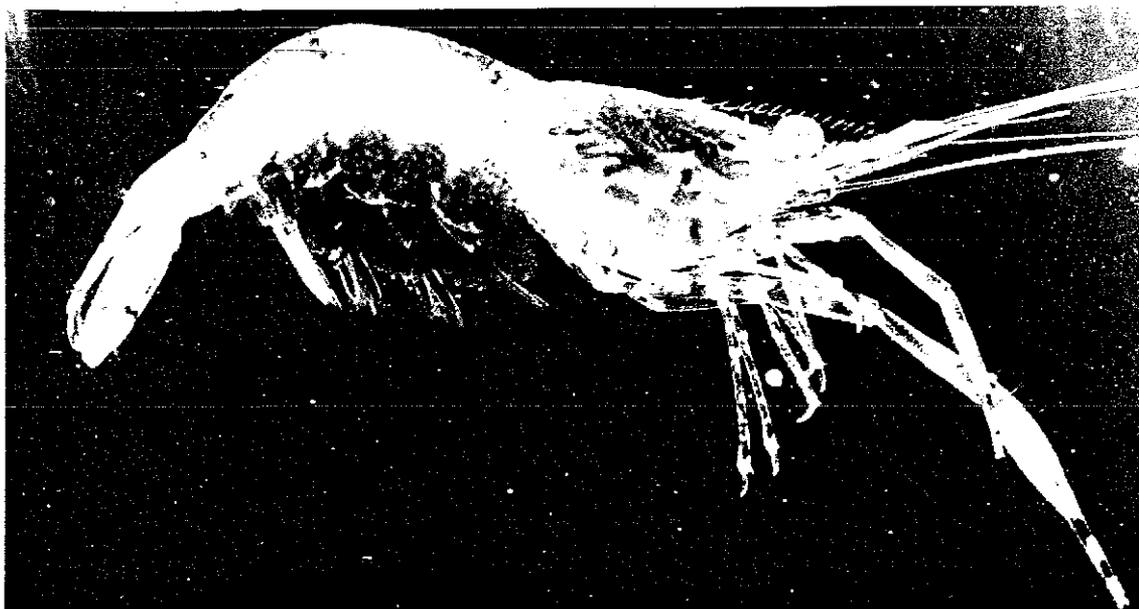


Fig. 2b. Hembra ovígera de *Macrobrachium* sp. de desarrollo completo con cientos de huevos.

Macrobrachium villalobosi y *Macrobrachium acherontium* son especies que habitan en cuevas en los estados de Oaxaca y Tabasco respectivamente. Se distinguen por producir pocos huevos con suficiente vitelo, presentar desarrollo larval abreviado y no ser dependientes de la salinidad. Su patrón morfológico sigue siendo el de un langostino, pero debido a las condiciones propias de su ambiente escaso en luz y de difícil acceso, han sufrido adaptaciones morfológicas notables, es así como *M. villalobosi* presenta ojos sin cornea, no tienen pigmentos corporales y sus apéndices torácicos son alargados por lo que se considera una especie completamente troglobia (Fig. 3a). *Macrobrachium acheronthium*, en cambio, aunque se ha encontrado habitando en cuevas no es una especie totalmente troglobia ya que no presenta cambios morfológicos típicos para considerarla como tal, sus corneas están reducidas y los apéndices torácicos son esbeltos y poco elongados.

Macrobrachium viconni (Fig. 3b) y *Macrobrachium tuxtlaense* presentan desarrollo abreviado y no son dependientes de la salinidad, su distribución es puntual, se han encontrado encerrados en cuevas de difícil acceso o en arroyos que no tienen salida al mar. Sus hembras ovígeras presentan pocos huevos de gran tamaño, provistos de mucho vitelo.

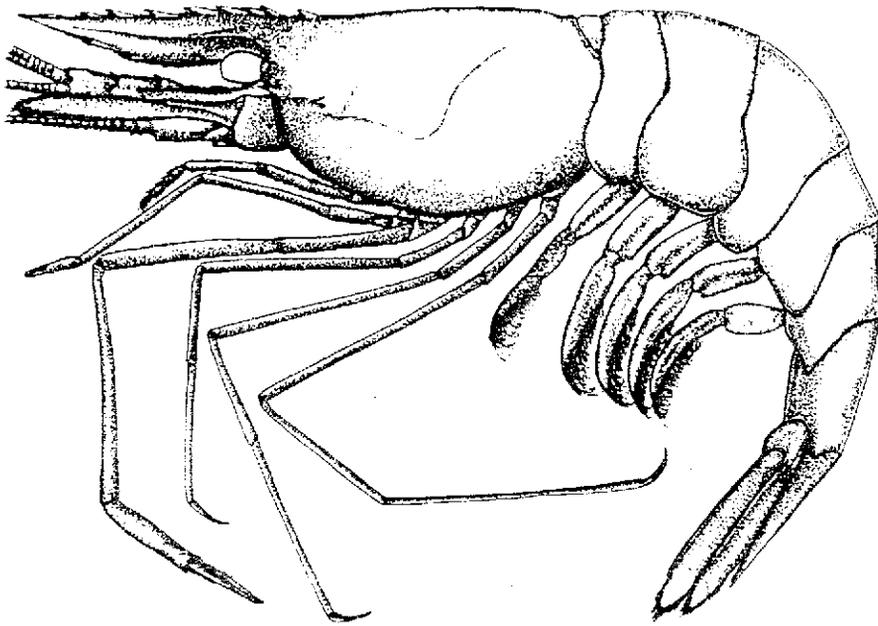


Fig 3a *Macrobrachium villalobosi*, especie cavernícola con desarrollo abreviado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

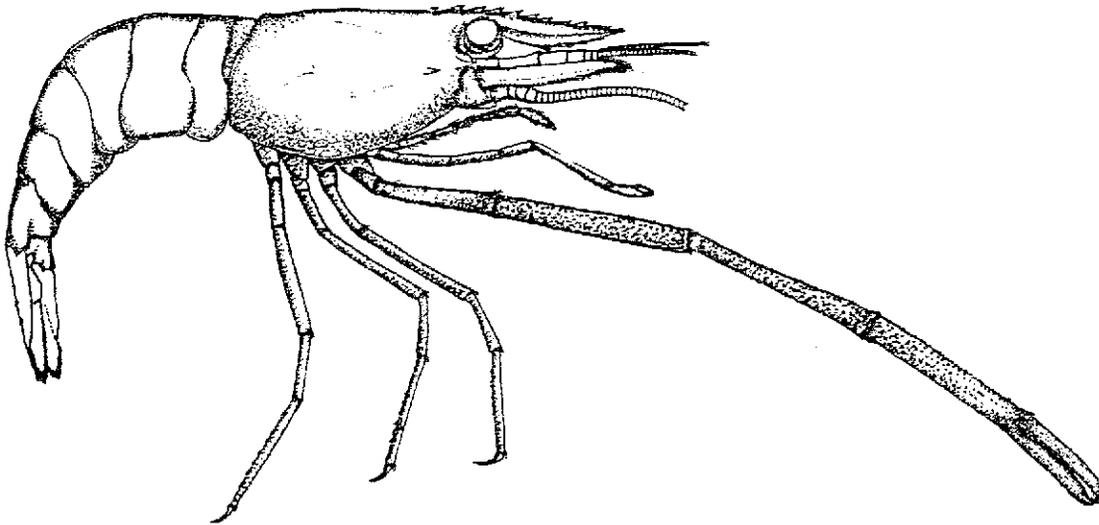


Fig. 3b *Macrobrachium vicinnyi* especie epigea con desarrollo abreviado.

Hasta 1995 se conocían alrededor de 39 especies epígeas de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado en el mundo: 17 en Sudamérica, 2 en Australia, 11 en Asia, 6 en Africa, 2 en la India y 1 en Japón (Pereira y García, 1995). A finales de 1999, Villalobos y Alvarez describieron la primera especie epígea con desarrollo abreviado para México y América del Norte denominada *Macrobrachium tuxtlaense*, proveniente de un arroyo cercano al pueblo de Coyame, en los Tuxtlas, Veracruz, un tributario del pueblo de Catemaco (Fig. 4a) y en el año 2000 Román y colaboradores publicaron la segunda especie de este tipo *Macrobrachium viconni* proveniente del río Perlas, Ocosingo, Chiapas (Fig. 4b). Estas especies se caracterizan por exhibir un desarrollo larval directo o abreviado, es decir, que las etapas larvarias se desarrollan dentro del huevo de donde eclosiona un organismo de mayor tamaño y más desarrollado. Producen pocos huevos (no más de 50), de gran tamaño (± 2 mm de diámetro), con mucho vitelo y su ciclo de vida se desarrolla en cuerpos de agua dulce que no tienen acceso al mar; o bien, que se encuentran tan distantes de la costa que la migración al mar y después río arriba es impracticable. Típicamente, el desarrollo abreviado implica la independencia de estas especies del agua salada, siendo mínimos o inexistentes los estadios inmaduros, favoreciendo los procesos de especiación.

Hasta 1995 el registro de las especies epígeas de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado en el Continente Americano, estaba restringidas a la cuenca del Amazonas: Venezuela, Colombia y Brasil (Pereira, 1986, 1993; Pereira y García, 1995). Sin embargo, en recolectas de estos últimos años realizadas por los integrantes de la Colección Nacional de Crustáceos, del Instituto de Biología, UNAM, en diferentes regiones del sureste de México, se han encontrado, en principio cinco poblaciones de pequeños langostinos con desarrollo abreviado (tres en Veracruz, una en Tabasco y una en Chiapas). Los ambientes en los que se habitan estos palemónidos, se caracterizan por ser arroyos de montaña que nacen en manantiales aislados y vierten sus aguas a cañadas para desembocar en ríos más caudalosos o en lagos volcánicos.



Fig. 4a Arroyo Las Margaritas de Catemaco, San Andrés Tuxtla, Veracruz. Lugar de recolecta de *Macrobrachium tuxtlaense*.



Fig. 4b Río Perlas, Ocosingo, Chiapas. Lugar de recolecta de *Macrobrachium vicinni*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Si bien las cinco nuevas poblaciones de *Macrobrachium* recolectadas tienen apariencia morfológica muy similar, no son idénticas, por ello la gran interrogante a resolver es: ¿estamos frente a varias poblaciones de la primera especie epigea del género *Macrobrachium* con desarrollo abreviado, frente a poblaciones en vías de especiación, o frente a especies completamente distintas de *Macrobrachium*, pero con desarrollo abreviado?

El descubrimiento en el sur de México de éstas nuevas formas del género *Macrobrachium* con desarrollo abreviado permite suponer que la presencia del género en la región tropical de América es muy antigua, ya que sólo así podría explicarse el patrón de distribución actual, desde la parte meridional de México hasta Sudamérica. Este planteamiento coincide con la existencia de estos langostinos en hábitats de agua dulce estrictamente cerrados por tierra (Bueno y De Almeida, 1995), particularmente manantiales, pequeños arroyos de montaña e incluso cuevas, sin ninguna comunicación con la costa (Villalobos y Alvarez, 1999). De igual forma se debe de considerar la propuesta hecha por Pereira *et al.*, (1995), quienes en los últimos años han planteado la idea de que este grupo de especies, caracterizadas por presentar desarrollo abreviado (al menos en nuestro continente), pudo haberse formado antes de que lo hicieran las especies de desarrollo larval extendido. Y por qué no pensar en que la distribución, tan puntual, de estas poblaciones pueda corresponder a relictos que lograron sobrevivir en cuerpos de agua epigeos, alejados de la costa y en ocasiones efímeros producto de los movimientos de los continentes en épocas remotas?. Ó bien, que las posibilidades adaptativas de las especies les han permitido independizarse del agua salina y colonizar nuevos ambientes aún oligotróficos, contrarrestando todas las características desfavorables de dichos ambientes, logrando una adaptación exitosa?.

Basándonos en este escenario, se propone el presente proyecto de investigación que tiene como objetivo estudiar la variación genética, la morfometría y la ultraestructura del apéndice masculino, en tres de las cinco poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado recientemente

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

encontradas; *Macrobrachium tuxtlaense* (Fig. 5a), *Macrobrachium* sp. 1 (Fig. 5b) y *Macrobrachium* sp. 2 (Fig. 5c).

En forma paralela, las mismas aproximaciones se realizaran para cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus*, que es una especie de langostino con distribución continua, a lo largo de la costa este del continente, cercana al complejo anterior, de amplia distribución y con desarrollo larval extendido, de esta manera se tendrá un parámetro de comparación con los resultados que se obtengan.

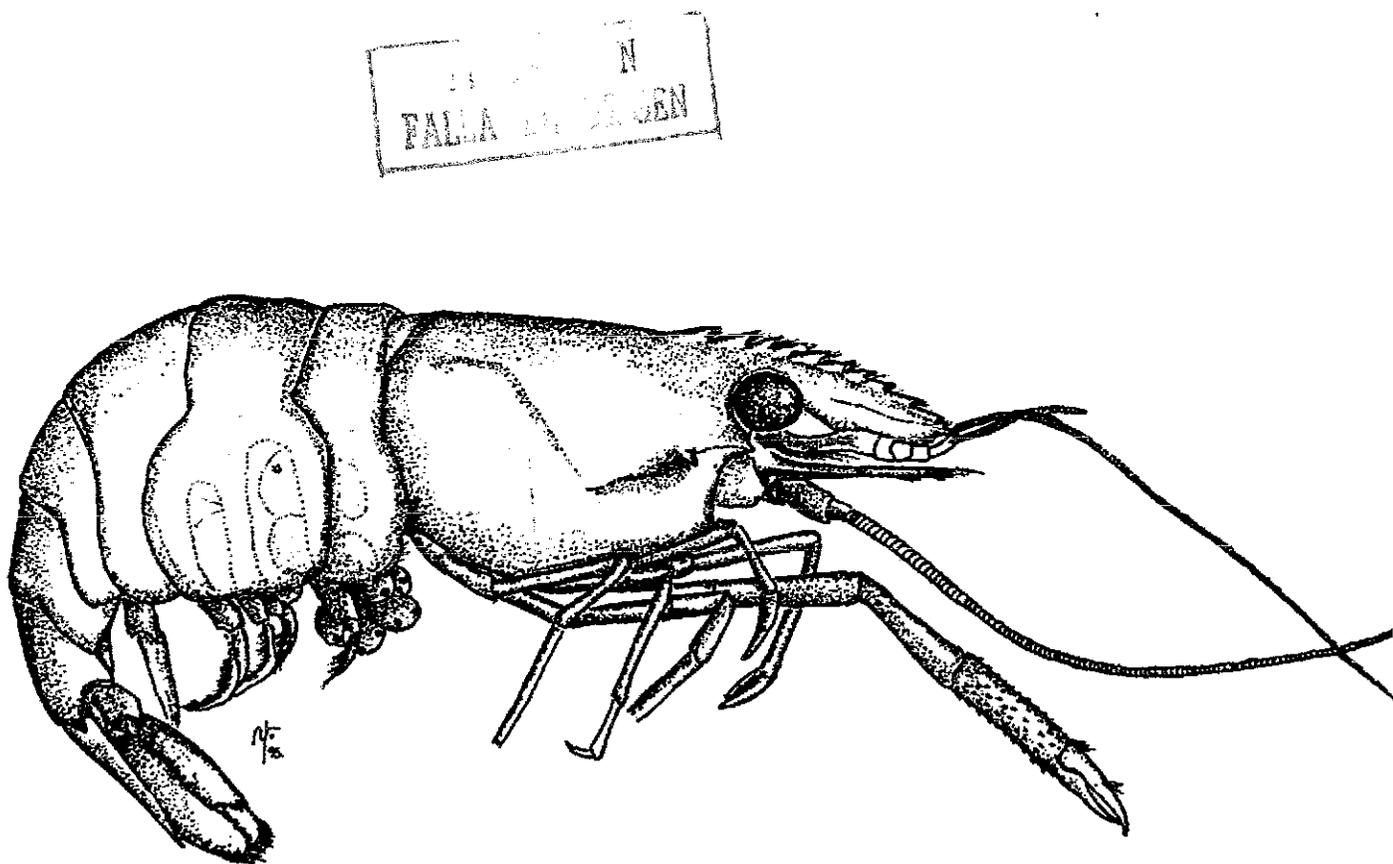


Fig. 5a Esquema de *Macrobrachium tuxtlaense*, proveniente del Arroyo Las Margaritas de Catemaco, San Andrés Tuxtla, Veracruz

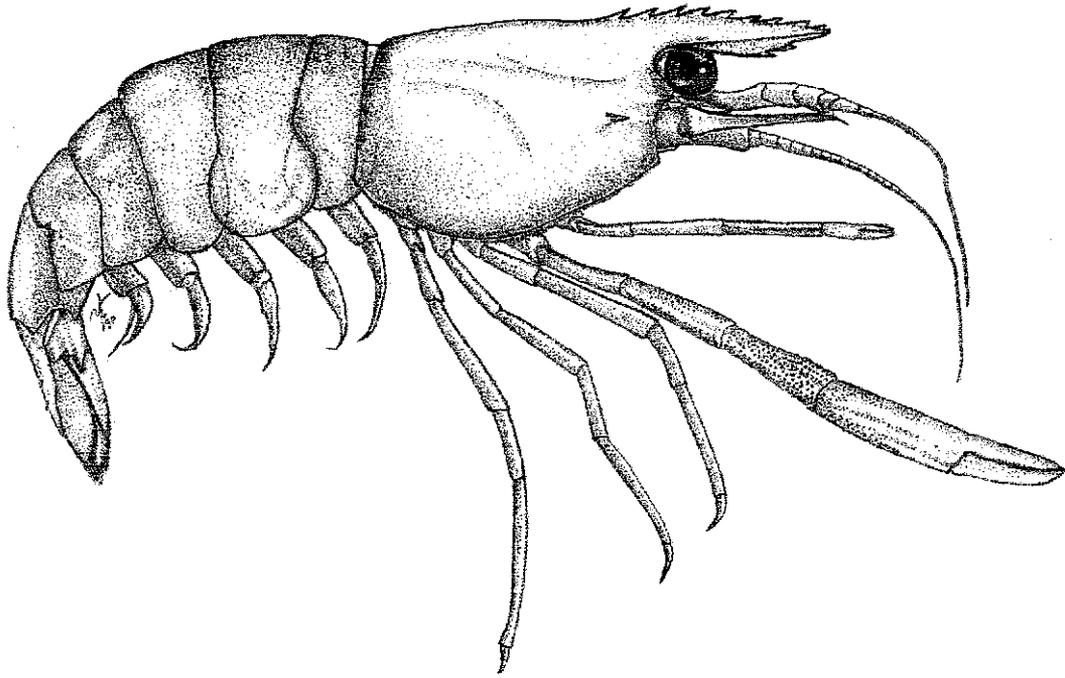


Fig. 5b. Esquema de *Macrobrachium* sp.1, Proveniente del Arroyo Santiaguillo, Santiago Tuxtla, Veracruz.

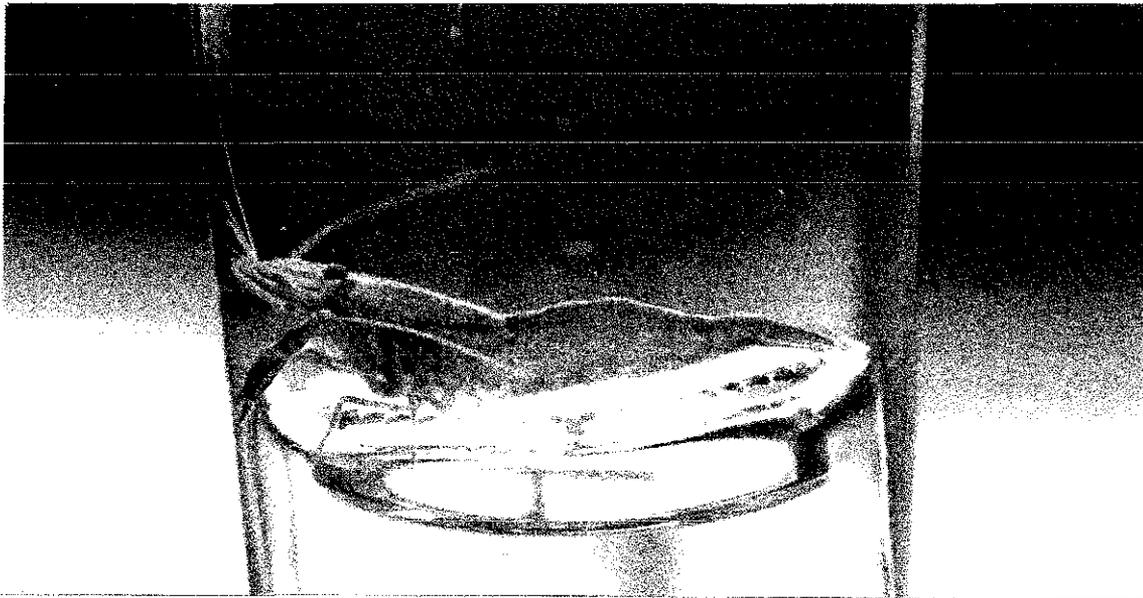


Fig. 5c. Esquema de *Macrobrachium* sp.2, proveniente del Balneario San Antonio, San José Las Choapas, Tabasco.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Objetivos generales

1. Determinar, a partir de un análisis isoenzimático, morfométrico y de ultraestructura, el nivel de variación en tres poblaciones de langostinos con desarrollo abreviado (*Macrobrachium tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2).
2. Comparar estos resultados con el grado de variación de cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus*, especie de amplia distribución y con desarrollo larval extendido.
3. Determinar si existe evidencia suficiente para proponer que estas poblaciones, de distribución restringida y desarrollo abreviado puedan ser tratadas como especies distintas.

Capítulo I

La Estructura Genética de las Poblaciones

1. Introducción

1.1 Genética de Poblaciones y evolución

Una población genética se define como un grupo de individuos que comparten un mismo grupo de genes. En consecuencia, entre dichos individuos existen relaciones genéticas que confieren a la población características propias que la hacen diferente, aún bajo condiciones de asociación simpátrica a otra u otras poblaciones (Molina, 1992)

La finalidad de la genética de poblaciones es la de explicar, en términos cuantitativos y predictivos, el proceso de adaptación, uniendo las ideas de selección natural de Darwin y Wallace, con las leyes genéticas de Mendel (Eguiarte, 1986). Los objetivos de la genética de poblaciones son:

- a. describir los niveles de variación genética dentro y entre poblaciones, por medio de las frecuencias de los genes (frecuencias alélicas) y la frecuencia de los genotipos, y
- b. tratar de explicar esta variación, en términos de las distintas fuerzas evolutivas (selección natural, deriva génica, mutación, migración y sistemas reproductivos) (Hedrick, 1983).

Se puede definir a la evolución como cualquier cambio en las condiciones de equilibrio de una población (desequilibrio de las frecuencias alélicas), por la violación de una o más de las condiciones de equilibrio de la ley de Hardy-Weinberg. Ya que ninguna población es infinitamente grande, las mutaciones espontaneas no pueden ser evitadas ni la selección ni las presiones migratorias que generalmente existen en las poblaciones naturales. De modo que es sorprendente que a pesar de estas violaciones de las restricciones de la ley de Hardy-Weinberg, muchos genes cumplen, dentro de los límites establecidos, con las condiciones de equilibrio entre generaciones sucesivas (Stanfield, 1971).

La evolución en las poblaciones se debe a los cambios genéticos causados por las fuerzas evolutivas y se determina mediante el análisis de las frecuencias génicas actuales que permiten explicar cómo han cambiado en el tiempo y predecir su cambio futuro (Hartl y Clark, 1989).

1.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg

La genética de poblaciones, en su afán de investigar cómo se expanden los genes, a través de las poblaciones de organismos, encontró una base sólida en los trabajos del matemático inglés Godfrey H. Hardy y el obstetra alemán Wilhelm Weinberg; quienes en 1908 formularon, por separado, lo que ahora se conoce como la ley de Hardy-Weinberg. Esta ley afirma que si dos alelos de un gen autosómico (A y a), existen en una población, la frecuencia con la que se presentan son p y q, ($p + q = 1$) respectivamente, y si el apareamiento se produce de forma aleatoria con respecto al gen, entonces, de una generación la frecuencia de los tres genotipos será:

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

D	H	R
AA	Aa	aa

Donde p^2 es la fracción de la siguiente generación que se espera sea homocigota AA (D), $2pq$ es la fracción de heterocigotos esperada (H o Aa), y q^2 es la fracción que se espera sea aa (R). Estas fracciones deben sumar la unidad para explicar todos los genotipos de la población filial. Para obtener el equilibrio genético, como lo expresa la ecuación de Hardy-Weinberg, las frecuencias génicas se deben mantener constantes de generación en generación para ello se deben cumplir las siguientes cinco condiciones:

- (a) que el tamaño poblacional sea muy grande,
- (b) que todos los apareamientos sean al azar,
- (c) que todos los alelos sean igualmente competentes para dejar hijos,

- (d) que no lleguen alelos de fuentes externas, y
- (e) que no exista mutación.

Si una población cumple con estas condiciones no sufrirá cambios en las frecuencias alélicas de una generación a otra y, por lo tanto, no evolucionará (Stansfield, 1971)

1.3 Fuerzas evolutivas

El efecto de las distintas fuerzas evolutivas (mutación, selección natural, flujo génico, deriva génica, sistemas de apareamiento), sobre los alelos de un locus hace que éste sea mono o polimórfico. Hay fuerzas evolutivas que pueden aumentar la variación genética (mutación), o disminuirla como es el caso de la deriva génica; sin embargo, las restantes fuerzas evolutivas pueden aumentar o disminuir la variación genética dependiendo de la particularidad del caso (Hedrick, 1983).

La mutación génica, natural o artificial, es el único fenómeno que produce modificaciones génicas y como tal contribuye a la generación de nueva variabilidad genética. Las aberraciones cromosómicas y la recombinación génica son también fuentes de variabilidad genética, pero sin modificación de los genes ya existentes. La mutación génica, considerada en la actualidad como un cambio en las secuencias de bases en la cadena de ADN, es un fenómeno raro en la naturaleza ($= 1 \times 10^{-9}$) (Molina, 1992).

La selección, natural o artificial, es otra de las fuerzas que modifican las frecuencias génicas y consecuentemente las genotípicas de una población. La selección puede ser cigótica o gamética, según actúe sobre los individuos o sobre los gametos (Molina, 1992). Para el cálculo del cambio de frecuencia del gen **a**, después de un ciclo de selección, conviene asignar a cada genotipo un valor *W*, que refleje su grado de supervivencia; este valor se conoce como “valor adaptativo”, “valor selectivo” o “adecuación”. Más simple, la selección natural es el proceso por el cual genotipos con mayor adecuación (mayor capacidad de

sobrevivir y de reproducirse en un ambiente determinado), dejan en promedio más descendencia que genotipos con menor adecuación. Como resultado, los tipos y frecuencias de alelos en la población cambian para promover una mejor adaptación de la población al ambiente (Hartl y Clark, 1989).

La endogamia es el apareamiento preferencial genotípico positivo. Es, por lo tanto, el apareamiento entre individuos que son parientes, generando una reorganización de los alelos dentro de los genotipos, donde la frecuencia de homocigos se incrementa y la frecuencia de heterocigos se reduce en forma relativa a las proporciones esperadas bajo apareamiento al azar (Hedrick, 1983; Molina, 1992).

La deriva génica es el cambio de las frecuencias alélicas debido al azar, como resultado del muestreo de gametos de generación en generación. La magnitud del cambio de las frecuencias alélicas, en cada generación, es dependiente del tamaño efectivo de la población, que se entiende como el número de individuos que se reproducen, (Hartl y Clark, 1989). El resultado más importante de la deriva génica es la pérdida de heterocigosidad en las poblaciones (Hedrick, 1983).

La migración o flujo génico tiene dos efectos; por un lado puede aumentar la variabilidad genética existente en una población, en un momento dado, variación sobre la cual puede operar la selección natural y conducirnos a la adaptación o puede provocar que intervengan individuos con genes adaptados a otras condiciones y, en consecuencia, que disminuya el índice de funcionamiento en la adaptación promedio de la población (Eguiarte, 1986; 1990 y Eguiarte et al., 1990). Aunque el flujo génico puede restringir la evolución previniendo la adaptación a condiciones locales, también puede promoverla a través de la dispersión de nuevos genes a través del área de distribución de las especies (Slatkin, 1987).

1.4 Variación genética

La descripción de la variación genética dentro y entre poblaciones es una parte central de la genética de poblaciones (Hedrick, 1983); esta descripción consiste en analizar las proporciones correspondientes a los distintos genotipos y su distribución en el espacio y tiempo y nos referimos a ella como estructura genética de una población (Loveless y Hamrick, 1984 en Eguiarte, 1990).

La base genética de la variación se explica con los trabajos de Mendel, quien descubre la herencia por segregación de caracteres y distribución independiente de estos (Hartl y Clark, 1989). La variación, al ser hereditaria, es la materia prima de la evolución, ya que el cambio de la proporción de variantes, de una generación a otra, es lo que se llama evolución (Futuyma, 1998).

La manera como se distribuye la variación genética dentro y entre poblaciones, constituye su estructura genética e involucra el sistema espacio temporal de las frecuencias genotípicas (Allendorf, 1983)

La variación genética puede ser medida a través de la proporción de loci polimórficos, o a través de la frecuencia promedio de individuos heterocigos por locus. El uso de cálculos estadísticos, permite expresar el nivel de diferenciación genética entre poblaciones geográficamente separadas. Es así como Nei (1972), propuso un método útil para estimar la diferenciación genética entre poblaciones utilizando datos electroforéticos definiendo la distancia genética, que estima el número de sustituciones alélicas por locus que han ocurrido en la evolución independiente de las poblaciones (Ayala y Kiger, 1984). A partir de estas distancias es posible reconstruir las relaciones entre las poblaciones.

Otro índice que permite expresar el nivel de variación genética entre poblaciones es el índice de diferenciación F_{st} , para el que Wright consideró el caso donde una población original se dividió en un número grande (teóricamente infinito) de poblaciones y se alcanzó el equilibrio después de

muchas generaciones. Este índice puede medir distancia genética y estimar el tiempo de divergencia entre dos poblaciones (Wright, 1965).

1.5 Isoenzimas y electroforésis

Markert y Moller (1959), fueron los primeros en acuñar el término de isozymas, para describir las diferentes formas moleculares de las enzimas, en una especie, que presentan una actividad catalítica común. Estas enzimas funcionales confieren flexibilidad, versatilidad y precisión a los organismos desde el punto de vista de funciones metabólicas (Acquaah, 1992).

La electroforesis es una técnica bioquímica versátil que detecta la variación genética. Fue introducida por Tiselius en 1937 y consiste, básicamente, en la migración de las proteínas en una matriz de almidón, agarosa, poliacrilamida o acetato de celulosa. Este movimiento se debe a la carga de las cadenas de aminoácidos básicos (NH_3^+) o ácidos (COO^-), donde la carga neta de cada proteína varía con el pH. La migración de las proteínas también se ve afectada por el tamaño y la forma de éstas. En sí, el objetivo que se persigue con la técnica de electroforésis, es el de encontrar cambios ocurridos por mutaciones, en las secuencias de aminoácidos que codifican locus específicos de ADN, los que pueden observarse en la alteración de la forma, carga neta, eficiencia catalítica y estabilidad de la molécula (Hillis y Moritz, 1990; Helena laboratories, 1993).

Los genes que codifican proteínas tienen dos propiedades que les confieren ciertas ventajas como marcadores genéticos: la primera, es que una fracción significativa de estos genes son polimórficos en la mayoría de los organismos; y la segunda, es que estas diferentes formas o alelos generalmente son codominantes, lo que permite relacionar los fenotipos observados (electromorfos) con determinados genotipos (Weeden y Wendel, 1989).

Los estudios de electroforésis de isoenzimas, particularmente en crustáceos, han sido utilizados para evaluar el status genético de poblaciones naturales, para el mejoramiento genético de especies cultivables, identificación

de especies cercanamente relacionadas, estimación del grado de parentesco de diferentes taxa y en la reconstrucción de filogenias (Hedgecock et al., 1977, 1982; Hedgecock 1979; Lester, 1979; D'Amato y Corach, 1996).

1.6 Estructura genética de poblaciones

Allendorf (1983), se refiere a la estructura genética de las poblaciones como la forma en la que se distribuye la variación genética entre y dentro de ellas. Es común encontrar que las poblaciones naturales estén físicamente separadas o subdivididas en pequeños demos o subpoblaciones aisladas geográficamente (modelo de islas o stepping-stone), en las cuales la cantidad de similitud genética puede diferir. También, podemos encontrar especies en las cuales la población entera puede constituir un ente panmictico (potencialmente todos los individuos se pueden entrecruzar), o el caso en el cual la especie es una población única continua, geográficamente dentro de la cual los individuos se entrecruzan solamente con los organismos más próximos.

Cuando la población tiene subpoblaciones localizadas en las cuales existe deriva génica, o el apareamiento entre individuos no es al azar a lo largo de la población, o si la migración no tiene probabilidades iguales a través de la población, se considera que la población esta estructurada (Hedrick, 1983).

La estructura genética de las poblaciones se ve afectada por el tamaño, número y edad de los individuos de cada población (Hartl y Clark, 1989). La importancia de conocer la estructura genética de una especie radica en poder predecir la evolución de sus poblaciones.

1.7 Estimadores usados en genética de poblaciones:

1.7.1 Variación genética

Los índices más utilizados para conocer la variación genética dentro de una población son:

1). *Proporción de loci polimórficos (P)*. Un locus es polimórfico cuando presenta más de un alelo. Ya que la probabilidad de encontrar más de un alelo en un locus se incrementa a medida que aumenta el número de individuos muestreados, se determinó un criterio arbitrario para decidir si un locus es polimórfico, independiente del número muestral. Por ello se dice que un locus es polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común no excede el 95% ó el 99% (Hedrick, 1983; Hartl y Clark, 1989). Para estimar el polimorfismo, se debe calcular la proporción de loci que fueron polimórficos con relación al total de loci estudiados. Toma valores entre 0 y 1, cercanos a cero indican la no-existencia de variación genética y cercanos a 1 indica que todos los gene/loci tienen dos o más alelos.

2). *Heterocigosidad promedio esperada (H)*. Es el porcentaje promedio de loci heterócigos por individuo, o equivalente, el porcentaje promedio de individuos heterócigos por locus. Se calcula obteniendo la heterocigosidad en cada locus como $H = 1 - \sum p_i^2$; donde p_i es la frecuencia de cada uno de los alelos presentes en el locus, y luego se obtiene el promedio para todos los loci estudiados. Este índice puede tomar valores desde 0 (cuando no existe variación genética) a 1, (Hartl y Clark, 1989).

3). *Número promedio de alelos por locus (A)*. Es simplemente el resultado de obtener el promedio aritmético del número de alelos presentes en cada uno de los loci estudiados, (Hedrick, 1983).

1.7.2. Coeficiente de endogamia

Mide el grado de endogamia en una población. El coeficiente de endogamia (F) de Wright (1921) y mide la reducción en la heterocigosidad dentro de una población debido al entrecruzamiento entre parientes, con respecto a la heterocigosidad esperada en equilibrio Hardy-Weinberg.

El *índice F*, se define como: $F = 1 - (\text{proporción de heterocigos observados} / \text{proporción de heterócigos})$. F es igual a cero (0) si la población se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg, dado que la heterocigosidad

observada es igual a la heterocigosidad esperada y puede tomar valores entre -1 a 1. Es de -1 si existen exclusivamente individuos heterocigotos en la población y de +1 si sólo se presentan individuos homocigos.

Además de expresar la endogamia promedio de todos los miembros de una población en una generación particular, el coeficiente de endogamia también es una medida de la probable identidad alélica de un solo individuo endogámico. "Por identidad alélica" se entiende que los dos alelos presentes en un organismo son idénticos por descendencia. ; es decir que los dos gametos que forman el cigoto vienen de parientes y portan alelos que son productos replicados de un solo gen en un ancestro común (Castañeda, 1996).

1.7.3. Estadísticos F de Wright

Los estadísticos F probablemente sean la medida de diferenciación de las poblaciones, más utilizada, están basados en la partición de la varianza genética dentro y entre las poblaciones, midiendo el grado de endogamia y aislamiento en términos de la distribución de la varianza genética (Costa y Ross, 1994; En Eguiarte, 1990). Estos estadísticos permiten analizar las proporciones de heterocigotos en tres niveles jerárquicos, dentro de cada subpoblación (F_{is}), entre subpoblaciones (F_{st}) y en la población en conjunto (F_{it}).

Una población subdivida tiene tres distintos niveles de complejidad: individuos (I), subpoblaciones (S) y la población total (T). Que en términos de heterocigosidad son H_i = la heterosigocidad de un individuo en una población, H_s = la heterocigosidad esperada de un individuo en una población equivalente con apareamiento al azar. H_i es la heterocigosidad observada promediada a través de todas las subpoblaciones. H_s representa el nivel de heterocigosidad que podría ser encontrado en una subpoblación si la subpoblación tuviese apareamiento al azar. H_t , representa cual sería la heterocigosidad si todas las subpoblaciones fuesen puestas juntas y se aparearan al azar.

Para el caso de k subpoblaciones $H_i = \sum H_i / K$, si p_{is} es la frecuencia del i alelo, en la subpoblación s , y H_s es la heterocigosidad esperada en Hardy-

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Weimberg en la subpoblación s entonces $H_s = 1 - \sum p_{i,s}^2$ donde la sumatoria es sobre todos los alelos.

H es el promedio de H_s tomado sobre todas las poblaciones. Finalmente si p_i es la frecuencia del alelo i , promediado sobre todas las subpoblaciones, entonces, $H_T = 1 - \sum p_i^2$. Los estadísticos F son calculados a partir de las frecuencias genotípicas en cada locus.

F_{IS} = mide la reducción relativa de la heterocigosidad con respecto a la esperada bajo apareamiento al azar, se define como:

$$F_{IS} = (H_s - H_i) / H_s$$

Donde H_s y H_i son las proporciones de heterocigos promedio observada y esperada, respectivamente, dentro de la subpoblación (Hartl y Clark, 1989). Toma un valor positivo cuando la heterocigosidad observada es menor que la esperada, o un valor negativo cuando hay un exceso de heterocigotos con respecto al equilibrio Hardy-Weimberg (Hartl y Clark, 1989).

F_{IT} = mide la reducción en la heterocigosidad de un individuo relativo a la población total, incluye la contribución debida al apareamiento al azar dentro de las subpoblaciones y a la subdivisión por si misma, se define como:

$$F_{IT} = (H_t - H_s) / H_t$$

Donde H_s es la heterocigosidad observada en la subpoblación y H_t es la proporción de heterocigos esperada en el ámbito global. En términos simples el F_{IT} estima la diferencia total debida tanto a endogamia como a la deriva génica.

F_{ST} = se conoce como índice de fijación subpoblacional total o de diferenciación y mide la fijación relativa de alelos alternativos en diferentes subpoblaciones comparando el promedio de las heterocigosidades en las subpoblaciones con la heterocigosidad total esperada bajo apareamiento al

azar. La magnitud de la F_{st} por lo tanto depende de la cantidad de divergencia entre las subpoblaciones en las frecuencias alélicas, se define como:

$$F_{st} = (H_t - H_s) / H_t,$$

Donde H_s es la proporción promedio de heterócigos esperada en la subpoblación y H_t es la proporción de heterócigos promedio esperada a nivel global (Wright, 1978; Hartl y Clark, 1939). Si F_{st} es igual a cero, se tiene que la población está en equilibrio de Hardy - Weimberg y si es igual a uno todas las poblaciones son diferentes entre si, esto se entendería si hay alelos fijos para las distintas poblaciones.

Weir y Cockerham (1984) introdujeron los estimadores f , θ y F , que son equivalentes a F_{is} , F_{st} y F_{it} , pero tienen la ventaja de considerar la posibilidad de diferentes tamaños de muestras en términos de poblaciones observadas, individuos muestreados, loci registrados y alelos observados, los cuales se interpretan como un signo de que la estructura poblacional es demasiado pequeña para ser detectada.

1.7.4 Distancia e Identidad genética

Son otros índices capaces de estimar las diferencias entre poblaciones en términos de su composición genética. La distancia genética, es el grado de diferenciación genómica entre pares de poblaciones o especies. La manera más común de estimar la distancia genética, es estimando el número de diferencias en codones por locus, a partir de los datos de polimorfismos electroforéticos. La distancia genética puede tomar valores de 0 a infinito. Si las frecuencias alélicas son iguales, la distancia genética será igual a cero y su valor irá aumentando conforme las frecuencias alélicas se vayan diferenciando (Nei, 1987). Es común pensar que las poblaciones de una especie que están más próximas geográficamente, sean las más emparentadas genéticamente. Es este el principio que se conoce como aislamiento por distancia (Wright, 1958), que

indica que los organismos de una población tienden a aparearse con los más próximos geográficamente, de lo esperado por el azar. La distancia genética se ha descrito como $D = -\ln I$, donde I , es la identidad genética y se define como la probabilidad de escoger un par de alelos idénticos, uno proveniente de la población X y otro de la población Y. I , toma valores que van de 0 a 1, es de 1 si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas y de cero sino comparten alelos, (Nei, 1987).

Los métodos de distancia tienen la finalidad de reducir los datos a una matriz de distancia entre taxa y permiten construir un árbol a partir de ésta matriz. Estos métodos tienen la ventaja de mantener la independencia de alelos al transformar las frecuencias alélicas en unidades de distancia genética.

Se han propuesto varias medidas de distancia para transformar las frecuencias alélicas y genotípicas a distancias genéticas (Wright, 1978). Las distancias comúnmente usadas son las de Nei (1972 y 1978). La distancia genética de Nei intenta medir el número de sustituciones de codones por locus que han ocurrido después de la divergencia entre un par de poblaciones (taxa) (Swofford y Olsen, 1990). Esta interpretación es válida sólo si la tasa de sustitución génica por locus es uniforme a través de los loci y los linajes (Hillis, 1984). Existen varias formas de agrupamientos a partir de las distancias genéticas, por ejemplo; UPGMA, Neighbor-Joining, etc.

UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic average). En el UPGMA se busca, en la matriz de distancia, el elemento de menor distancia y los OTUs involucrados se unen en un nodo interno que se dibuja en una posición adecuada a lo largo del eje de distancia. Cada vez que se selecciona un elemento de la matriz se construye una nueva con un número de OTUs igual al anterior menos uno (puesto que se toman en conjunto los OTUs que se han unido en el agrupamiento). Se revisa la matriz nuevamente y se busca el siguiente elemento más pequeño. En cada ciclo del proceso de agrupamiento, los OTUs son agrupados de acuerdo a la distancia más pequeña de los taxa involucrados (Avice, 1994). La principal suposición de este método de

agrupamiento, es que la tasa de sustitución de genes es constante a través de todas las ramas del dendograma (Nei, 1987; Avise, 1994).

Neighbor-joining; este es un algoritmo para inferir un árbol aditivo. Esta conceptualmente relacionado con el UPGMA, pero permite tasa desiguales de cambio molecular entre ramas. En términos prácticos no supone que todos los linajes han divergido en iguales cantidades. Esto lo hace construyendo en cada paso del análisis una matriz de distancias transformadas que tienen el efecto de ajustar la longitud de las ramas entre cada par de nodos. El árbol se construye uniendo los pares de nodos de menor distancia en la matriz de distancia transformada (Avise, 1994).

1.8 Genética poblacional en crustáceos

Los crustáceos decápodos presentan niveles relativamente bajos de polimorfismo enzimático (Tabla II). La heterocigosis media reportada para crustáceos, en general, es de 0.082 (Nevo *et al.*, 1984) y de 0.048 para decápodos ($n = 65$ especies, intervalo 0.000 - 0.128) (Hedgecock *et al.*, 1982). Lester (1979) reporta niveles de heterocigosidad media para *Farfantepenaeus aztecus* de 0.089, de 0.084 para *Litopenaeus setiferus* y de 0.070 para *Farfantepenaeus duorarum*, considerándolos valores intermedios con relación a otros crustáceos marinos. Dall *et al.* (1990) establecen que la diversidad genética en los Penaeidae aparece entre los niveles más bajos reportados para animales, lo que es confirmado más tarde por Tam y Chu (1993), donde se reportan valores de heterocigosidad entre 0.007 y 0.049, para *Farfantepenaeus* y *Metapenaeus*, respectivamente. Valentine y Ayala (1976) reportan diferencias considerables en los niveles de variación isoenzimática en las especies de krill, *Euphausia superba* ($H = 0.057$), *Euphausia mucronata* ($H = 0.141$) y *Euphausia distinguenda* ($H = 0.213$), encontrando que estas diferencias están inversamente correlacionadas con la latitud. Los valores de variación genética son igualmente bajos para langostas del género *Homarus*. Tracey *et al.* (1975) observan una heterocigosidad media de 0.04 en *H. americanus*. Hedgecock *et*

al. (1977) estudiaron dos poblaciones de *H. gammarus* de aguas europeas para las que reportan valores de 0.03 y 0.055, respectivamente.

En relación al género *Macrobrachium*, Hedgecock *et al.* (1982), han reportado un valor de heterocigosis promedio de 0.028 para *M. rosenbergii*. En cambio, D'Amato y Corach (1996) encuentran altos niveles de diversidad en dos poblaciones de *Macrobrachium borellii* ($H = 0.2599$ y $H = 0.3436$) en un río y un lago conectados al Río de La Plata, Argentina, utilizando la técnica de marcadores RAPD. En México se desconocen por completo estos valores, tanto para el grupo de langostinos citados como para las nuevas poblaciones o especies de interés en este estudio.

Tabla II. Algunos estimadores de variación genética e cruces de decapodos.

Especie	Número de Población	Número de loci	Número de loci polimórfico	Porcentaje (%) Polimorfismo	Heterocigosidad Observada	Heterocigosidad esperada	Fst	Referencia
Crustaceos								
Decapodos								
Marinos								
<i>Pinnaculus</i>						0.082		Nevo et al., 1984
<i>Pinnaculus</i>						0.048		Hedgecock et al., 1982
<i>Pinnaculus</i>						0.007		Tam y Chu, 1993
<i>Pinnaculus</i>						0.089		Lester, 1979
<i>Pinnaculus</i>						0.084		Lester, 1979
<i>Pinnaculus</i>						0.07		Lester, 1979
<i>Pinnaculus</i>						0.017		Mulley y Later, 1980
<i>Pinnaculus</i>						0.033		Mulley y Later, 1980
<i>Pinnaculus</i>						0.008		Mulley y Later, 1980
<i>Pinnaculus</i>						0.022		Mulley y Later, 1980
<i>Pinnaculus</i>						0.032		Mulley y Later, 1980
<i>Pinnaculus</i>						0.006		Mulley y Later, 1980
<i>Pinnaculus</i>						0.008		Mulley y Later, 1980
<i>Pinnaculus</i>						0.049		Tam y Chu, 1993
<i>Metapenaeus</i>		40		0.14	0.026			Mulley y Later, 1980
<i>M. macleayi</i>		40		0.14	0.02			Mulley y Later, 1980
<i>M. bennettii</i>		40		0.14	0.03			Mulley y Later, 1980
<i>M. eudrewiana</i>		40		0.14	0.013			Mulley y Later, 1980
<i>M. ensis</i>		40		0.14	0.01			Mulley y Later, 1980
<i>M. insulatus</i>		40		0.14	0.019			Mulley y Later, 1980
<i>M. eboracensis</i>		40		0.14	0.057			Valentine y Ayala, 1976
<i>Euphausia setigera</i>					0.141			Valentine y Ayala, 1976
<i>E. macronata</i>					0.213			Valentine y Ayala, 1976
<i>E. distinguenda</i>					0.04			Tracey et al., 1975
<i>Homarus americanus</i>					0.03			Hedgecock et al., 1977
<i>H. gommieri</i>								
Epilobocentales								
<i>Macbracellium lar</i>		10		0.4	0.05	0.117		Hedgecock et al., 1977
<i>M. nipponense</i>	6	10	2	0.1	0.041	0.04	0.252	Armada, 1993
<i>M. nipponense</i> (lago)	3	10	2	0.1	0.021	0.023	0	Armada, 1993
<i>M. nipponense</i> (laguna)	8	10	2	0.1	0.059	0.052	0.01	Armada, 1993
<i>M. nipponense</i> (estuario)	6	10	1	0.1	0.048	0.048	0	Armada, 1993
<i>M. formosense</i>	6	10	3	0.1	0.052	0.052	0.012	Armada, 1993
<i>M. japonicum</i>		10		0.15	0.042	0.042	0	Armada, 1993
<i>M. rosenbergii</i>						0.028		Hedgecock et al., 1982
<i>M. borellii (a)</i>						0.259		D'Amato y Corach, 1996
<i>M. borellii (b)</i>						0.0343		D'Amato y Corach, 1996
<i>M. lar</i>	1	10	4	0.4	0.05	0.117		Armada, 1993

Objetivos particulares:

1. Obtener las frecuencias alélicas de los distintos loci analizados, mediante electroforesis en acetatos de celulosa a partir de muestras de tejido blando de ejemplares de siete poblaciones de langostinos del género *Macrobrachium*, tres de desarrollo abreviado y cuatro de desarrollo extendido.
2. Determinar los estimadores de variación genética intrapoblacional, Heterocigosidad (H), Polimorfismo (P) y Número de alelos compartidos (A_c), para cada una de las siete poblaciones en estudio.
3. Determinar el coeficiente de endogamia (F) como un estimador de la estructura poblacional, en cada una de las siete poblaciones estudiadas.
4. Determinar los índices de Wright (1951), F_{it} , F_{is} y F_{st} , con la finalidad de describir la estructura genética de las poblaciones de *Macrobrachium* en estudio.
5. Calcular los índices de distancia e identidad genética, para estimar las diferencias entre poblaciones en términos de su composición genética.

Hipótesis de trabajo

1. La separación geográfica y el desarrollo abreviado que presentan las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp.1 y *Macrobrachium* sp. 2, constituyen una barrera para el flujo de genes entre ellas.
2. Si las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp.1 y *Macrobrachium* sp. 2 se encuentran fijas para diferentes alelos, o si las frecuencias alélicas son distintas, entonces las poblaciones estarán diferenciadas genéticamente.

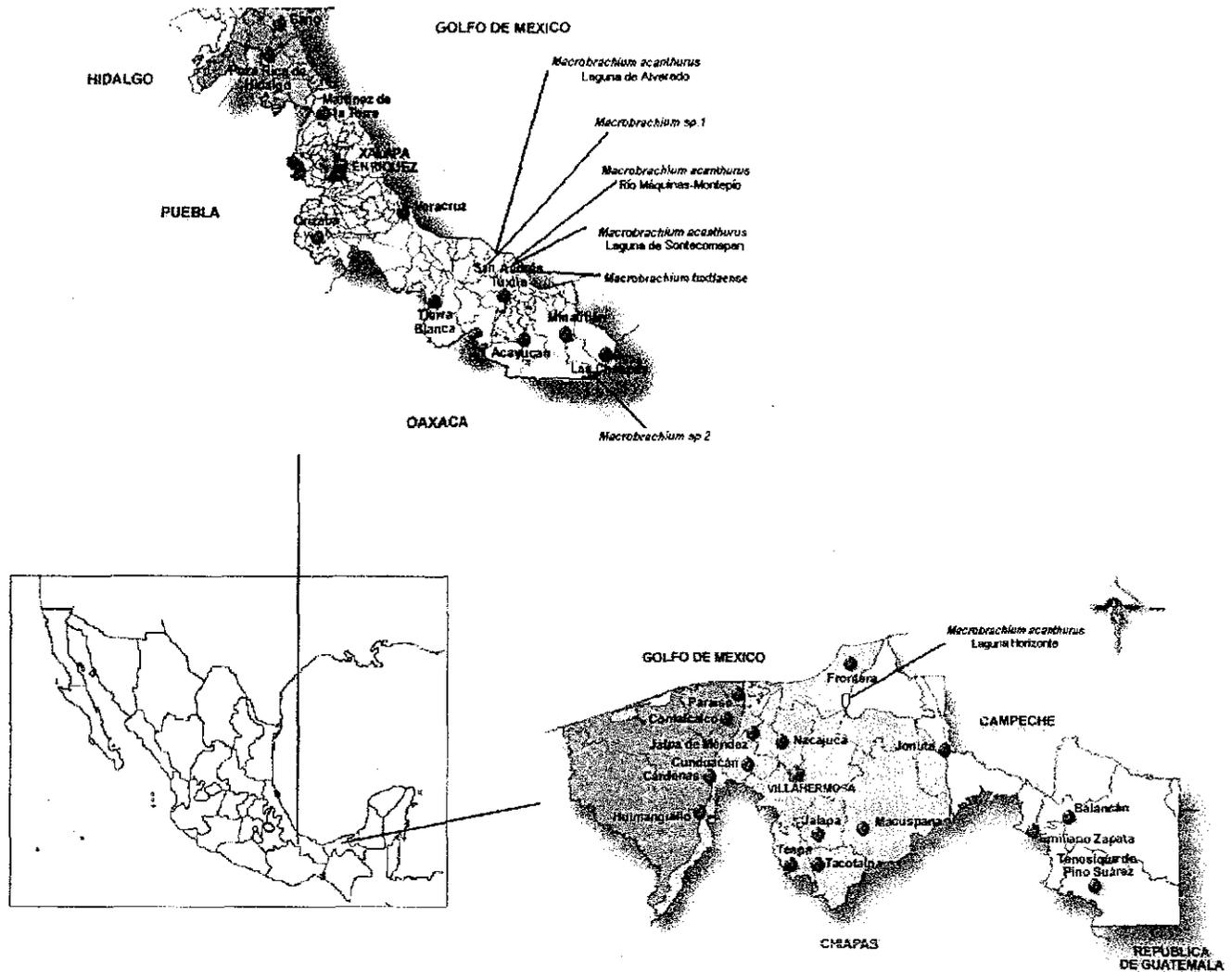


Fig. 6 Mapa de la ubicación geográfica de las siete poblaciones en estudio.

Los ejemplares fueron recolectados entre la vegetación de las orillas de los arroyos y lagunas con redes de cuchara. Los animales fueron mantenidos vivos en cubetas de plástico, con agua y aireadores, hasta el momento en que se midió su longitud total (Lt) y la longitud del cefalotórax (Lc). Los animales, aún vivos, fueron envueltos en papel aluminio con su respectiva tarjeta de identificación y congelados en nitrógeno líquido a una temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. Materiales y Métodos

2.1 Recolecta del material biológico

Entre los días 27 y 29 de septiembre de 1997, se recolectaron ejemplares de *Macrobrachium tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1 en dos localidades del estado de Veracruz. La tercera población de *Macrobrachium* sp. 2 fue recolectada el día 12 de enero de 1998 en el balneario San Antonio, Las Choapas, Tabasco. Los ejemplares de *Macrobrachium acanthurus*, especie de referencia para comparación, fueron recolectados entre los días 12 y 14 de enero de 1998 en tres localidades del estado de Veracruz. La cuarta población fue recolectada el día 25 de enero de 1998 en la Laguna Horizonte, en el estado de Tabasco, México (Tabla III, Fig. 6).

Tabla III. Localidades, ubicación geográfica y tamaño de muestra de las siete poblaciones en estudio.

Población	Ubicación	Localidad	Municipio	Especie	n
1	18° 24' N 95° 01' W	Las Margaritas Lago de Catemaco	San Andrés Tuxtla Veracruz	<i>M. tuxtlaense</i>	36
2	18° 28' N 95° 17' W	Río Santiago Santiago Tuxtla	Santiago Tuxtla Veracruz	<i>M.sp 1</i>	48
3	17° 51' N 94° 05' W	Balneario San Antonio San José Las Choapas	Las Choapas , Tabasco	<i>M. sp. 2</i>	28
4	18° 30' N 95° 01' W	Lago de Sontecomapan	Catemaco , Veracruz	<i>M. acanthurus</i>	35
5	18° 37' N 95° 05' W	Arroyo cerca del Río Máquinas-Montepío	San Andrés Tuxtla , Veracruz	<i>M. acanthurus</i>	30
6	18° 46' N 95° 48' W	Laguna de Alvarado	Alvarado , Veracruz	<i>M. acanthurus</i>	35
7	18° 14' N 92° 50' W	Laguna Horizonte	Nacajuca , Tabasco	<i>M. acanthurus</i>	30

2.2 Separación del tejido blando

Una vez en el laboratorio, con especial cuidado y rapidez, se separó el exoesqueleto del cefalotórax (caparazón) y del abdomen del tejido blando de cada animal (Fig. 7), el que fue introducido en tubos de ependorf y almacenado en un ultracongelador a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta efectuar las electroforesis. Del exoesqueleto del abdomen se disectó el segundo pleópodo (Fig. 7), el que fue observado con microscopía óptica para la identificación del apéndice masculino, estructura propia de los ejemplares machos. De esta manera se identificó el sexo de cada animal. Finalmente, los segundos pleópodos de los machos se conservaron en alcohol al 70% para el análisis de ultraestructura de igual forma se conservaron el exoesqueleto del cefalotórax (caparazón) y los segundos pereiópodos mayores, de todos los ejemplares para el estudio de morfología y morfometría (Fig. 7).

TESIS UCN
FALLA DE ORIGEN



Fig. 7 Separación de los distintos tejidos y estructuras, para los análisis correspondientes.

2.3 Electroforésis en acetatos de celulosa

En los ejemplares de tamaño pequeño (< 3.0 cm) se utilizó todo el tejido blando para este análisis, y en los animales de mayor talla, el tejido blando fue cortado longitudinalmente, obteniendo una porción de cada uno de sus órganos y apéndices. Los ejemplares enteros y las mitades de éstos, fueron colocados en tubos de eppendorf de 1.5 ml y macerados en 400 ul de agua destilada. El homogenado se centrifugó en frío, por 10 minutos a 15,000 rpm. Se utilizaron alícuotas de 8 ul del sobrenadante de cada ejemplar, para ser corridos en matrices de acetato de celulosa a 5 miliamperes y 80 voltios, para catorce sistemas enzimáticos.

En el caso de las enzimas Mpi e Idh, el corrimiento se hizo por 30 minutos; con las enzimas G6pdh, Pgi, Me y Got, por 60 minutos, y con las enzimas Mdh y Pgm, por 90 minutos (Tabla IV), utilizando la técnica de Richardson *et al.*, 1986. Las recetas utilizadas para la tinción de las enzimas son de Herbert y Beaton (1993). Las recetas y los sistemas amortiguadores se muestran en los anexos I y II.

De la lectura de los electromorfos se construyó la tabla de presencia alélica para cada población. Se determinó el porcentaje de alelos compartidos, entre las poblaciones y utilizando los alelos como caracteres y su presencia / ausencia como estado del carácter se construyó un fenograma de similitud alélica mediante el método de parsimonia, utilizando el programa PAUP (Phylogenetic analysis using parsimony, Swofford, 1990).

En el análisis de datos, se estimó la variación genética de cada población de la siguiente forma. Los electromorfos (genotipos inferidos), obtenidos de la lectura de los acetatos sirvieron como base para correr el programa "Tools for population genetic analysis" (TFPGA 1.3 Miller, 1998 Northern Arizona University), con el que se estimaron las frecuencias alélicas de cada población, a partir de las cuales se calcularon: las frecuencias genotípicas, porcentaje de loci polimorficos (P), la heterocigosidad (H), el número de alelos por locus (A), el número de alelos por locus polimórfico, el número efectivo de alelos por locus

(*Ap*) y el número efectivo de alelos por locus polimórfico. También se estimaron para cada población, los coeficientes de endogamia (*F*) y los estadísticos *F* de Wright (*F_{it}*, *F_{is}*, *F_{st}*). Para los valores promedio de los estadísticos *F* de Wright, se calcularon los intervalos de confianza al 95% con el método de bootstrap sobre todos los loci con 5,000 replicas. Para determinar si los estadísticos *F_{is}* y *F_{it}*, por locus, fueron significativamente distintos de cero, se utilizó la prueba de χ^2 de Li y Horvitz (1953):

$$\{ \chi^2 = F^2 N (K - 1) \}$$

Donde: $gl = K (K - 1)$, *K*= número de alelos y *N*= tamaño muestral.

Para probar la significancia distinta de cero, del *F_{st}*, se utilizó la prueba de χ^2 de Workmam y Neiswander (1970):

$$\{ \chi^2 = 2 N F_{st} (K-1) \}$$

Donde: $gl = (k-1)(s-1)$, *s* = número de subpoblaciones, y *K*= número de alelos.

La distancia genética (*D*) y la identidad genética (*I*) de Nei (1978) se estimaron usando todas las parejas de poblaciones, los resultados obtenidos son mostrados en una tabla que incluye ambas matrices. Los resultados de distancia genética se representan en forma de un dendrograma derivado del método de agrupamiento UPGMA (Sneath y Sokal, 1973). También, se obtuvieron las matrices de las distancias geográficas entre las distintas poblaciones. Las correlaciones entre los logaritmos de las distancias genéticas vs los logaritmos de las distancias geográficas, se analizaron mediante el test de Mantel, utilizando el programa TFPGA con 10,000 permutaciones al azar.

3. Resultados

3.1 Variación Isoenzimática y frecuencias alélicas

Debido a los escasos estudios de electroforesis de isoenzimas en acetatos de celulosa para crustáceos decápodos, fue necesario ensayar distintos sistemas de extracción, enzimas y sistemas amortiguadores de corrida y lograr un protocolo adecuado para el género *Macrobrachium*.

Para la extracción de las enzimas, se hicieron pruebas con agua destilada y los siguientes sistemas amortiguadores: tris HCl, tris citrato/borato y tris malato EDTA. En principio, se ensayaron las siguientes catorce enzimas: malato deshidrogenasa (Mdh), malato-6-fosfoisomerasa (Mpi), enzima málica (Me), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6pdh), isocitrato deshidrogenasa (Idh), glucosa-6-fosfatoisomerasa (Pgi), fosfoglucomutasa (Pgm), lactato deshidrogenasa (Ldh), peptidasa (Pep), adenilato kinasa (Ak), fumarasa (Fum), 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6Pgdh), xanthine deshidrogenasa (Xdh) y glutamato oxalacetato (Got). Todas estas enzimas se corrieron en los siguientes sistemas buffer, adecuándolos a un ph óptimo: citrato fosfato 0.01M, tris malato 0.05M, tris maleato 0.015M, tris citrato y tris glicina.

En la extracción de las enzimas los mejores resultados se obtuvieron con el agua destilada. En cuanto a las enzimas, cuatro de ellas no presentaron actividad en el tejido (Ak, Fum, 6Pgdh y Xdh), otras dos (Ldh y Pep) no presentaron actividad en más de la mitad de los ejemplares de algunas poblaciones, por lo que decidimos retirarlas del estudio para evitar algún sesgo en el análisis de los resultados. Entonces, el estudio se realizó en función de la variación isoenzimática de las siguientes ocho enzimas: Mdh, Mpi, Me, G6pdh, Idh, Pgi, Pgm y Got.

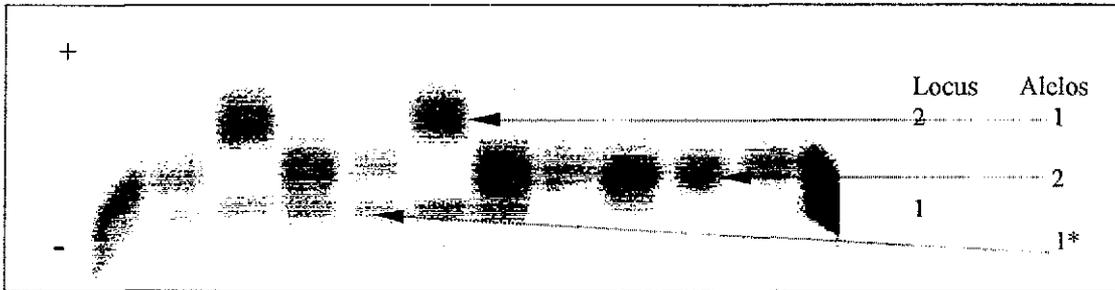
En los siguientes seis sistemas enzimáticos (G6pdh, Me, Mdh, Pgm, Mpi e Idh), el sistema amortiguador donde se obtuvo la mejor resolución y número de bandas fue el Tris malato 0.05M a ph 7.8, con distinto tiempo de corrida dependiendo de la enzima. Para la Pgi, el mejor sistema amortiguador fue el de Citrato fosfato 0.01M a ph 6.4 y para la Got, el Tris citrato a ph 8.2. Los sistemas buffer de corrida, ph, tiempo y voltaje, para cada una de las enzimas, se presentan en la Tabla IV.

Tabla IV. Enzimas, buffer de corrida, ph, tiempo y voltaje utilizados para los ensayos de electroforesis.

Enzima	Código	Amortiguador de corrida	ph	Tiempo (min)	Voltaje (volt)	Amperage (mA)
G6pdh-1	EC.1.1.1.49	Tris malato 0.05 M	7.8	60	80	5
Pgi-1	EC.5.3.1.9	Citrato fosfato 0.01 M	6.4	60	80	5
Me -1	EC.1.1.1.40	Tris malato 0.05 M	7.8	60	80	5
Mdh-1	EC.1.1.1.37	Tris malato 0.05 M	7.8	80	80	5
Pgm-1	EC.2.7.5.1	Tris malato 0.05 M	7.8	90	80	5
Mpi-2	EC.5.3.1.8	Tris malato 0.05 M	7.8	30	80	5
Idh-1	EC.1.1.1.42	Tris malato 0.05 M	7.8	30	80	5
Got-1	EC.2.6.1.1	Tris citrato 0.05 M	8.2	60	80	5

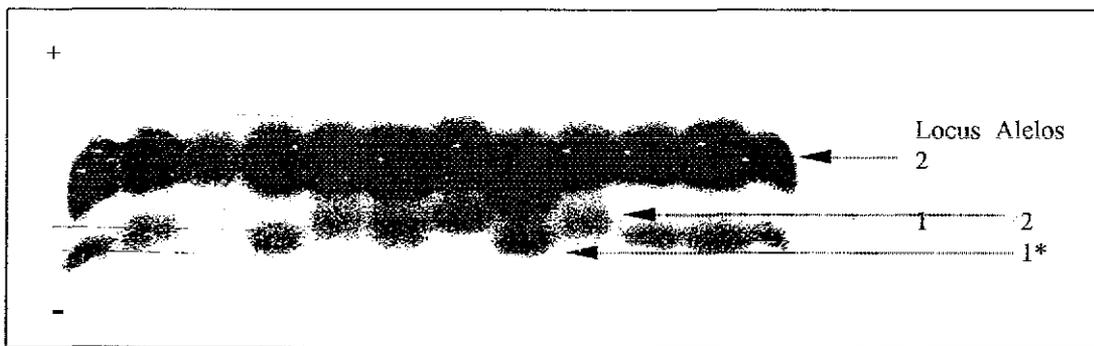
Las enzimas: G6pdh, Me, Pgm y Got presentaron sólo un loci de actividad en las siete poblaciones en estudio; sin embargo, la enzima Pgi presentó dos loci de actividad, pero en todas las poblaciones se trabajó con el Pgi-1, ya que el segundo loci en la mayoría de los casos era ilegible. Particularmente, en el caso de las enzimas Mdh e Idh, se observaron dos loci (para las tres poblaciones de desarrollo larval abreviado); sin embargo en las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* sólo se observó el locus Idh-1; por lo que, necesariamente, se leyó este locus con la finalidad de estandarizar los datos y hacer comparables los resultados. Finalmente, la enzima Mpi presentó dos loci de actividad para las siete poblaciones; pero Mpi-1 no era suficientemente

legible, por lo que se decidió leer el loci Mpi-2, en las siete poblaciones, (Figs. 8 a - k).



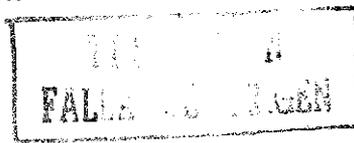
* Individuo heterocigoto

Fig.8a. Zimograma del Sistema Mdh. Se muestran los dos loci resueltos para las tres poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado, (individuos 3 y 6 de izquierda a derecha) y el locus 1 con los alelos con dos de los cuatro alelos resuelto para las siete poblaciones del género *Macrobrachium*.



• Individuo heterocigoto

Fig.8b. Zimograma del Sistema Mdh. Se muestran los dos loci resueltos para las tres poblaciones de desarrollo abreviado del género *Macrobrachium* y los alelos 1 y 2 del loci 1 con el que se hizo la comparación isoenzimática.



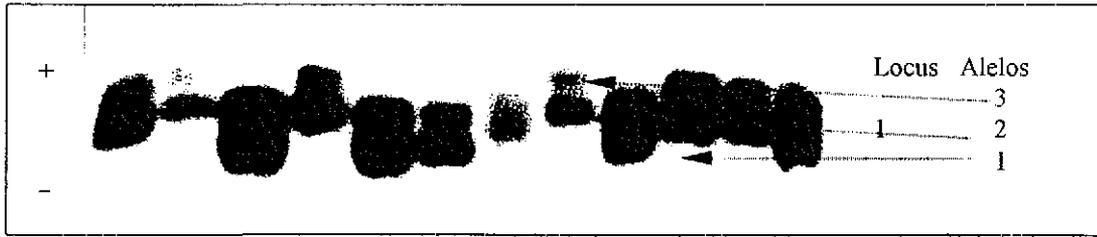


Fig. 8c. Zimograma del Sistema Me-1. Se muestra el único locus resuelto para las siete poblaciones del género *Macrobrachium* con tres de los cuatro alelos resultantes.

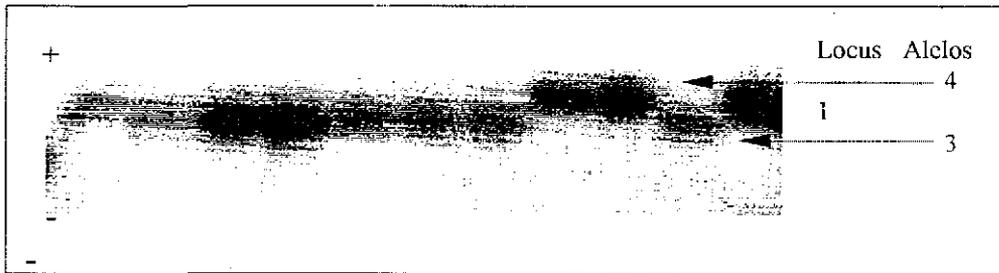


Fig. 8d. Zimograma del Sistema Got-1. Se muestra el único locus resuelto para las tres poblaciones del género *Macrobrachium* con desarrollo abreviado, con dos de los cuatro alelos resultantes.

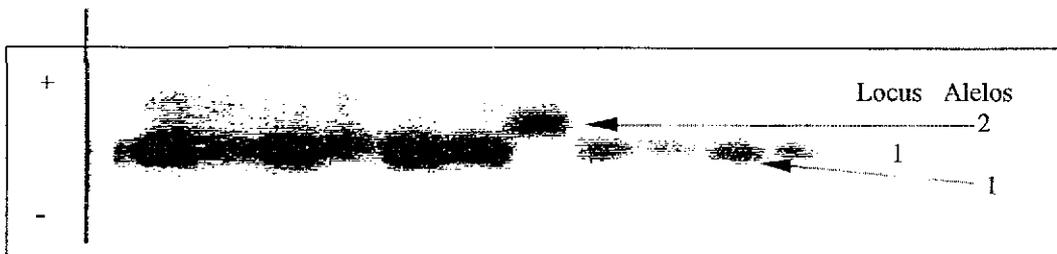


Fig. 8e. Zimograma del Sistema Got-1. Se muestra el único locus resuelto para las cuatro poblaciones *Macrobrachium acanthurus* con los dos alelos resultantes.

IMPRESO CON
FALTA DE ORIGEN

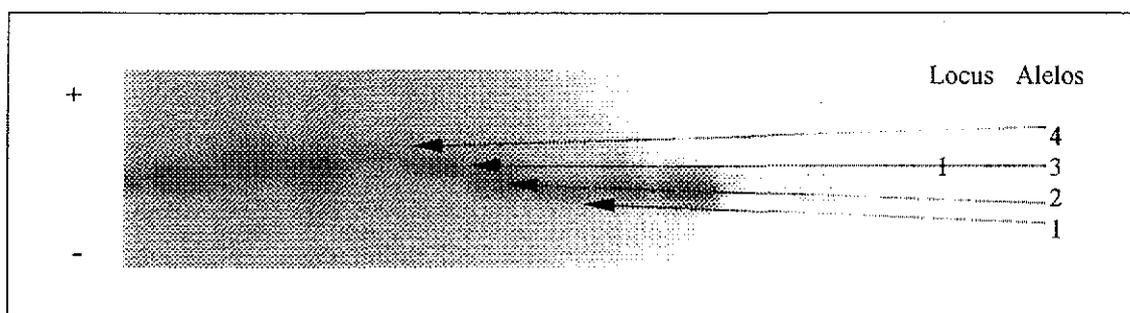
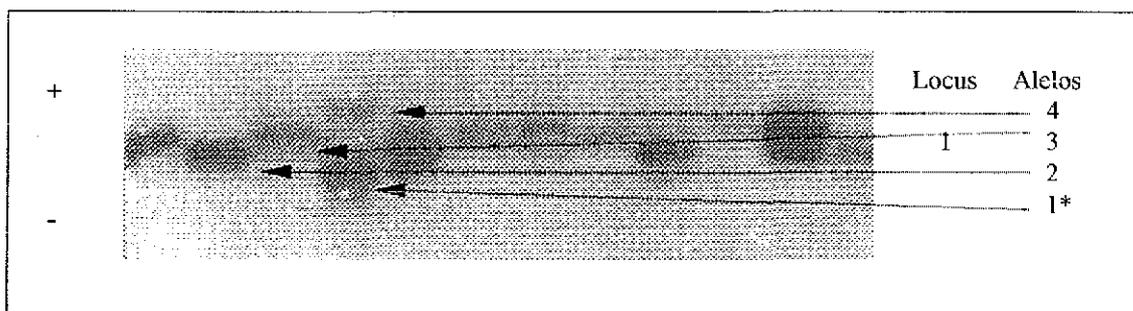


Fig.8f. Zimograma del Sistema G6pdh-1. Se muestra el único locus resuelto para las siete poblaciones de *Macrobrachium* con los cuatro alelos resultantes.



* Individuo heterocigo

Fig.8g. Zimograma del Sistema G6pdh-1. Se muestra el único locus resuelto para las siete poblaciones del género *Macrobrachium* con los cuatro alelos resultantes. Los individuos cuatro y seis (de izquierda a derecha) son heterocigos (14 y 23 respectivamente).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

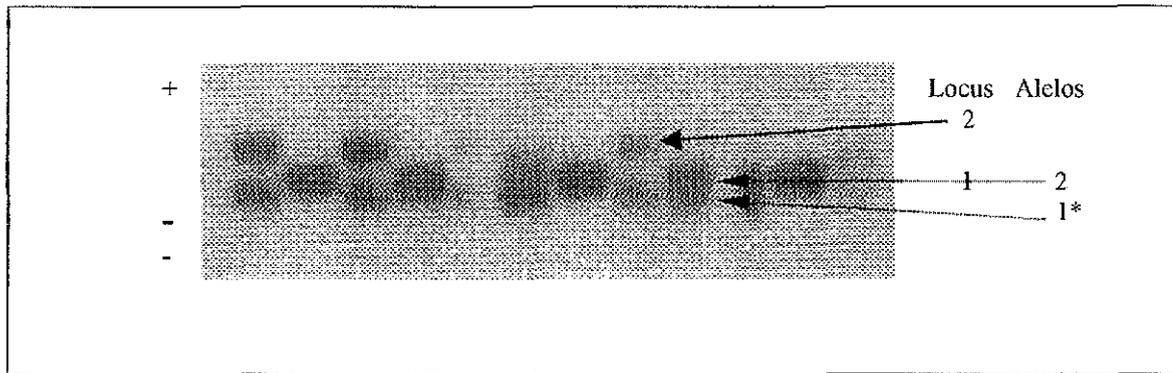


Fig.8h. Zimograma del Sistema Idh-1. Presentó dos loci de actividad sólo para ejemplares de las poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado. El locus 1 que fue el común para las siete poblaciones de *Macrobrachium* es monomórfico para las poblaciones de *M. acanthurus* (alelo 2) y polimórfico para las tres poblaciones de desarrollo abreviado (alelos 1 y 2).

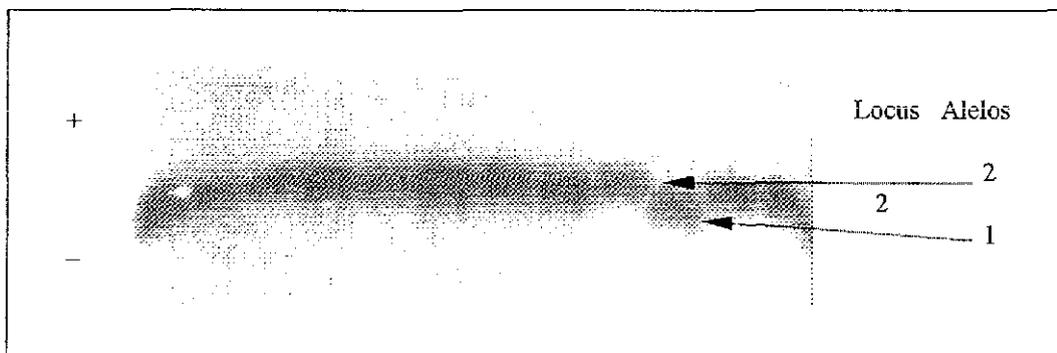
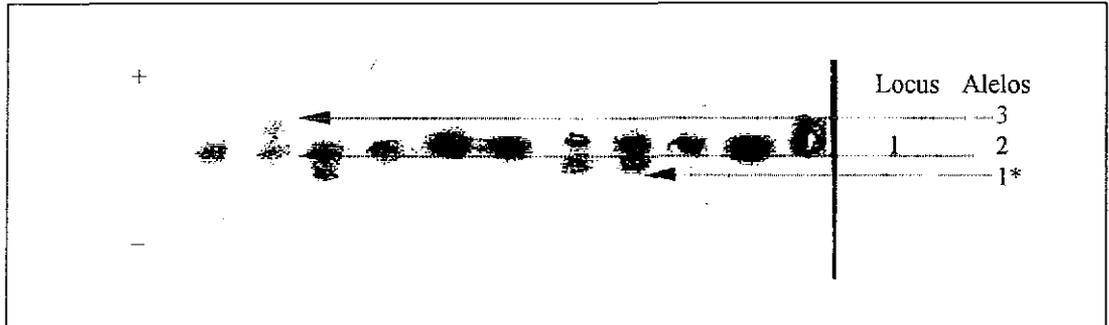


Fig.8i. Zimograma del Sistema Mpi-2. Presentó dos loci de actividad para todas las poblaciones de *Macrobrachium*, pero el locus 1 es muy poco legible y se comparó sólo el locus dos. Se señalan dos de tres alelos resultantes.

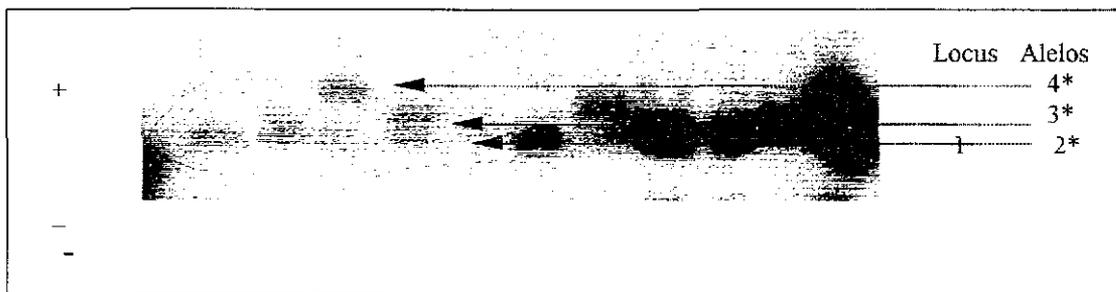
1981S CSM
 PALLA DE ORGÁN



* Individuo homocigoto.

Fig.8j. Zimograma del Sistema Pgm-1. Presentó un loci de actividad para las siete poblaciones de *Macrobrachium*. Se señalan tres de los cuatro alelos resultantes.

TESIS CON
FALTA DE CREDITO



* Individuo heterocigoto.

Fig.8k. Zimograma del Sistema Pgm-1. Presentó un loci de actividad para las siete poblaciones de *Macrobrachium*. Se señalan tres de los cuatro alelos resultantes.

Frecuencias alélicas

En lo que se refiere a las frecuencias alélicas (Tabla V), es posible señalar que las cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus* presentan los mismos alelos para los loci enzimáticos analizados en las enzimas Mpi-2, Idh-1, Pgm-1, Pgi-1 y en las otras cuatro enzimas al menos un alelo es común para las cuatro poblaciones y algunas de ellas presentan un alelo adicional. En cambio en las tres poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado (Tabla V poblaciones 1 a 3) las frecuencias alélicas no tienen ninguna tendencia o patrón establecido, excepto para la enzima Idh-1, en donde los alelos 1 y 2 están presentes en las tres poblaciones.

La población de *Macrobrachium tuxtlaense* es la que presenta un mayor número de alelos, por ejemplo en los loci enzimáticos de la Mdh-1 y Me-1 tiene cuatro variantes alélicas; sin embargo, la población de *Macrobrachium* sp. 1 está fija para el alelo 2 en ambas enzimas y la de *Macrobrachium* sp. 2 está fija para el alelo 2 en la Me-1 y presenta los alelos 2 y 4 para la Mdh-1.

En el caso de la G6pdh-1 el máximo de variantes alélicas encontradas es de cuatro, los mismos cuatro alelos presentes en la población de *Macrobrachium* sp. 1. *Macrobrachium* sp. 2 presenta tres de estos alelos, sólo le falta expresar el alelo 1 de la G6pdh, en cambio *Macrobrachium tuxtlaense* presenta los alelos 1 y 2.

Las enzimas Pgm-1, Pgi-1 y Got-1 presentan dos o más alelos para la población de *M. tuxtlaense*. *Macrobrachium* sp. 1 tiene fijo el alelo 1 para la Pgi-1 y el 4 para la Got-1, que en el caso de *Macrobrachium* sp.2 tiene fijo el alelo 2.

3.2 Variación genética

Proporción de loci polimórficos. De los ocho loci determinados, todos fueron polimórficos al menos en dos de las siete poblaciones estudiadas (Tabla

V); lo anterior, según el criterio de que el alelo más común no exceda el 95% de la población.

Así, los loci G6pdh-1, Mpi-2 y Pgm-1 resultaron ser polimórficos para todas las poblaciones. El Mdh-1 también lo fue, excepto para la población de *Macrobrachium* sp. 1 del arroyo Santiaguillo y la población de *M. acanthurus* de Tabasco. Respecto a la PGI-1, fue polimórfica para todas las poblaciones, excepto para la población de *Macrobrachium* sp. 1 de Santiaguillo y las poblaciones de *M. acanthurus* de Tabasco y Alvarado. La Idh-1, sólo fue polimórfica para las poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado, y la Got-1 fue polimórfica sólo para *M. tuxtlaense* y las poblaciones de *M. acanthurus* de Montepío y Tabasco. La enzima Me resultó ser monomórfica para el 62.5% de las poblaciones estudiadas, entre las que cuentan *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 del arroyo Santiaguillo y San Antonio, respectivamente; y para *M. acanthurus* de Sontecomapan, Montepío y Tabasco (Tablas V y VI).

Los valores de polimorfismo (P), calculados al 95% para las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* están dentro del intervalo de 37.5% – 62.5% que en promedio presentan un polimorfismo del 50%. Las poblaciones de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2 de San Antonio tienen un polimorfismo del 75%. Sin embargo, la población de *Macrobrachium* sp. 1 del arroyo Santiaguillo sólo presenta un 37.5% de polimorfismo (Tabla VI).

Heterocigosidad esperada (H), para *M. acanthurus* el valor promedio de heterocigosis fue de 0.187; para *M. tuxtlaense*, $H = 0.2478$ y para las poblaciones de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 fueron de 0.096 y de 0.3713, respectivamente (Tabla VI)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla V. Alelos presentes en las siete poblaciones en estudio.

Población 1: *Macrobrachium tuxtlaense*

Población 2: *Macrobrachium sp. 1*

Población 3: *Macrobrachium sp. 2*

Poblaciones 4, 5, 6 y 7: *Macrobrachium acanthurus*

Locus	Alelo	P O B L A C I O N						
		1	2	3	4	5	6	7
		Catemaco	Santiago	San Antonio	Sontecomapan	Montepio	Alvarado	Tabasco
MDH-1	1	1				1		1
	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	3						
	4	4		4	4	4	4	4
ME-1	1	1						
	2	2	2	2				
	3	3			3	3	3	3
	4	4						
G6PDH-1	1	1	1		1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2
	3		3	3		3	3	3
	4		4	4				
MPI-2	1			1				
	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	3	3	3	3	3	3	3
IDH-1	1	1	1	1				
	2	2	2	2	2	2	2	2
PGM-1	1		1					
	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	3		3	3	3	3	3
	4			4				
PGI-1	1	1	1	1	1	1		
	2	2		2	2	2	2	2
	3			3				
GOT-1	1					1	1	
	2	2		2	2	2	2	2
	3	3						
	4	4	4					

TUUS CON
FALLA DE ORIGEN

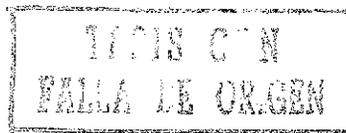
Heterocigosidad esperada (H). Para *M. acanthurus* el valor promedio de heterocigosidad fue de 0.187; para *M. tuxtlaense*, $H = 0.2478$ y para las poblaciones de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 fue de 0.096 y de 0.3713 respectivamente (Tabla VI).

Número de alelos por locus. El promedio de alelos por loci (A) es de 1.74 para las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* pero si se considera solamente el número alélico por loci polimórfico, entonces (A) aumenta a 2.20; mientras que para *M. tuxtlaense*, A es igual a 2.62. Para *Macrobrachium* sp. 1 el número alélico es de 1.75, el cual aumenta a 2.5 si se considera sólo el número de alelos de los loci polimórficos. El valor de A calculado para la población de *Macrobrachium* sp. 2 es de 2.25 ó de 2.67, si se considera sólo el número de alelos en los loci polimórficos (Tabla VI).

El valor promedio de número de alelos efectivos por loci (A_p), para las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* fue de 1.34, pero considerando sólo los alelos de los loci polimórficos, este índice toma el valor promedio de 1.54. Para *M. tuxtlaense*, A_p es igual a 1.46 y para *Macrobrachium* sp. 1 el número de alelos efectivo por loci es equivalente a 1.12, pero considerando sólo los loci polimórficos, A_p adquiere el valor de 1.25. Finalmente, la población de *Macrobrachium* sp. 2 es la que tiene el mayor valor de alelos efectivos por loci, A_p es igual a 1.82 y/ó de 2.09, si se cuentan sólo los alelos efectivos de los loci polimórficos (Tabla VI).

Tabla VI. Variación genética en cuatro poblaciones de *M. acanthurus*, una de *M. tuxtilaense* y dos de *Macrobrachium* sp. 1 y 2 de Veracruz y Tabasco, México.

Especie y ubicación	N muestral por locus	N° de alelos por locus (A)	N° de alelos por locus polimórfico	N° alelos efectivos por locus (Ap)	N° alelos efectivos por locus polimórfico	He	Ho	Porcentaje loci polimórfico
<i>M. tuxtilaense</i> *								
Catemaco	48	2.62 (0.30)	2.62 (0.85)	1.46 (0.51)	1.46 (0.51)	0.248 (0.07)	0.135 (0.05)	75
<i>M. sp. (1) *</i>								
Santiago	36	1.75 (0.4)	2.50 (0.86)	1.12 (0.14)	1.25 (0.11)	0.096 (0.04)	0.052 (0.35)	37.5
<i>M. sp. (2) *</i>								
San Anónimo	27 (1.0)	2.25 (0.30)	2.67 (0.47)	1.82 (0.61)	2.09 (0.46)	0.371 (0.09)	0.112 (0.54)	75
Promedio para (*)	111					0.382	0.1064	100
<i>M. acanthurus</i>								
Sontecomapan	35	1.62 (0.20)	2.00 (0.00)	1.26 (0.32)	1.41 (0.32)	0.161 (0.06)	0.039 (0.02)	50
Montepio	30	2.00 (0.30)	2.33 (0.47)	1.33 (0.32)	1.44 (0.32)	0.209 (0.06)	0.079 (0.03)	62.5
Alvarado	29.8 (0.30)	1.75 (0.30)	2.20 (0.40)	1.50 (0.60)	1.80 (0.58)	0.217 (0.09)	0.098 (0.05)	37.5
Tabasco	33.1 (1.60)	1.62 (0.30)	2.25 (0.43)	1.25 (0.60)	1.50 (0.28)	0.158 (0.06)	0.079 (0.03)	50
Promedio para								
<i>M. acanthurus</i>	31.9 (2.20)	1.74 (0.15)	2.20 (0.12)	1.34 (0.10)	1.54 (0.15)	0.187 (0.02)	0.073 (0.02)	62.5
Promedio para las siete poblaciones	238.87					0.424	0.0879	100



En un análisis de alelos compartidos entre las siete poblaciones en estudio, se pudo constatar que el porcentaje más alto lo presentan las cuatro poblaciones de la especie *Macrobrachium acanthurus* (desarrollo completo), con porcentajes que están entre 71% y 88%, con un promedio del 78%. Las poblaciones de desarrollo larval abreviado, comparten alelos en un porcentaje entre el 46% y 52%, con un promedio del 49%. En ambos grupos (desarrollo abreviado y completo) se repite que las poblaciones que están más cercanas geográficamente son las que menos alelos comparten y viceversa. Por ejemplo; *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1 sólo comparte el 46% de los alelos y están separadas por tan solo 15 kilómetros. en cambio *Macrobrachium* sp.1 comparte con *Macrobrachium* sp. 2, un 52% de los alelos y están separadas por 147.2 kilómetros. Lo mismo sucede con las poblaciones de *Macrobrachium acanthurus* por ejemplo las poblaciones de Alvarado y Montepío tienen el menor porcentaje de alelos compartidos dentro de su grupo (71%) sin embargo son las más cercanas geográficamente (17 kilómetros) en cambio las poblaciones de Tabasco y Montepío son las que comparten el mayor porcentaje de alelos (88%) y son las más alejadas geográficamente (316 kilómetros) (Tablas VII y VIII).

También es interesante hacer notar que las poblaciones con desarrollo abreviado comparten un mayor porcentaje de alelos con las poblaciones de *M. acanthurus* (en promedio un 52%) que entre ellas mismas, por ejemplo *M. tuxtlaense* comparte entre el 52 % y 62 % de alelos con la población de *M. acanthurus* y sólo entre el 46% y 50% con las otras poblaciones de desarrollo abreviado (Tabla VII).

Utilizando a los alelos como caracteres y su presencia / ausencia como estados del carácter se construyó una matriz de (7 x 28). Mediante el método de parsimonia con un bootstrap de 100 réplicas se obtuvo el fenograma de la figura 9, en el cual se muestra; tres ramas principales conformando una politomía. La primera rama, esta resuelta y une a las cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus* que comparten once de los dieciseis alelos. *M. acanthurus* de Montepío, Alvarado y Tabasco son básicamente iguales en su conformación alélica comparten trece de dieciseis alelos y difieren de la población de *M.*

población de *M. acanthurus* de Sontecomapan en un solo cambio. La segunda rama es una rama resuelta y esta sustentada por un 79%, une a las poblaciones de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2, que comparten once de veintiun alelos. La tercera rama separa completamente la población de *Macrobrachium tuxtlaense* del resto de las poblaciones analizadas (Fig. 9).

Las frecuencias alélicas para cada locus por población, se muestran en la tabla IX. Las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* (poblaciones 4 a 7) presentan valores de frecuencias alélicas muy similares entre ellas para la mayoría de las enzimas y las cuatro poblaciones presentan los mismos alelos fijos; por ejemplo, el alelo tres de la Mdh-1, el segundo alelo de la Idh-1, el segundo alelo de la Pgi-1 y de la Got-1. Las poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado (poblaciones 1 a 3), en cambio presentan frecuencias alélicas distintas sin un patrón establecido y el número de alelos fijos en estas poblaciones varía entre ellas, es así como *M. tuxtlaense* no presenta alelos fijos en ningún locus; mientras que, *Macrobrachium* sp. 1 tiene, por lo menos, cuatro loci con alelos fijos como Mdh-1, Me-1, Pgi-1 y Got-1 y la población de *Macrobrachium* sp. 2 tiene claramente dos loci fijos para algún alelo, la Me-1 y la Got-1 (Tabla IX). Sin duda la población de *Macrobrachium* sp. 1 es la que presenta un mayor número de alelos fijos para los distintos loci ensayados, y por ende, un menor polimorfismo enzimático.

Tabla VII. Porcentaje de alelos compartidos (Ac) entre las distintas poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado (1 a 3) y con desarrollo extendido (4 a 7).

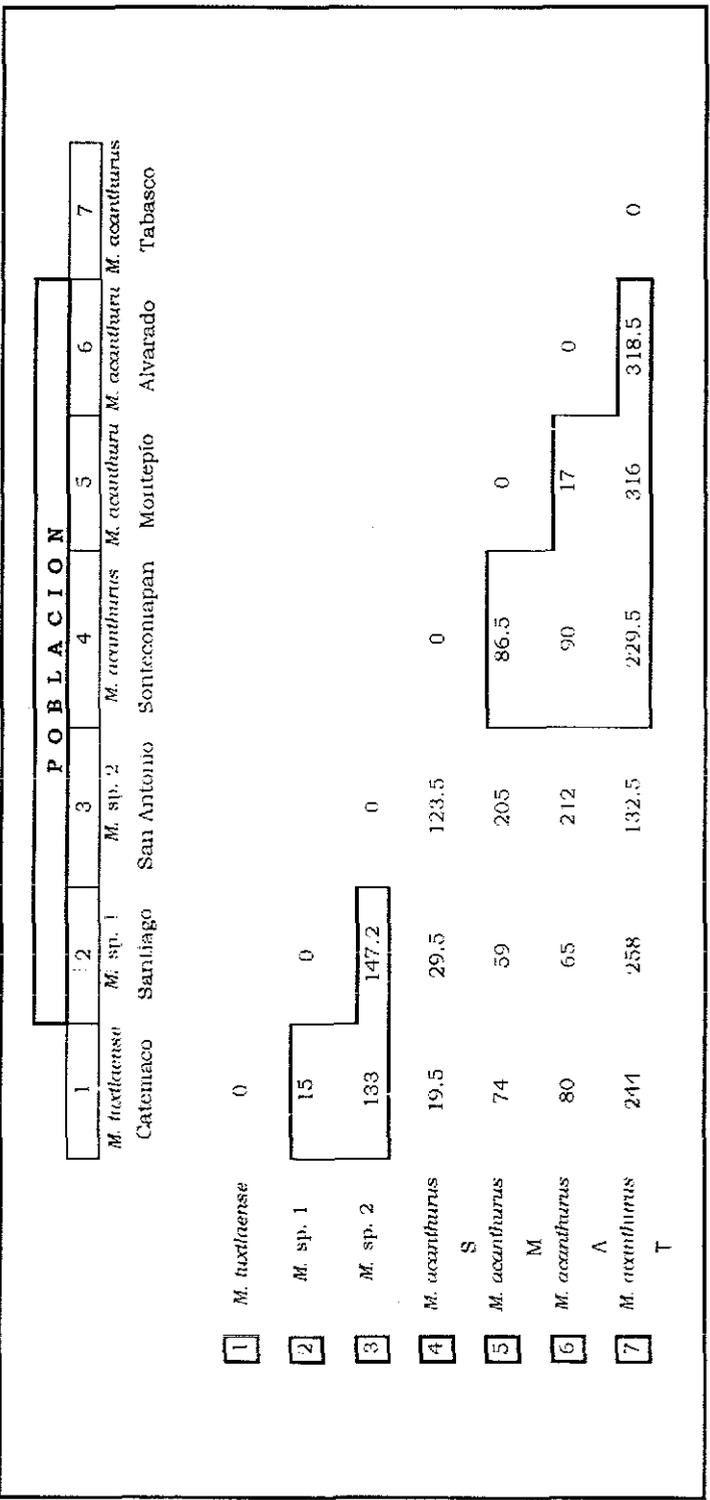
		P O B L A C I O N						
		1	2	3	4	5	6	7
		<i>M. tuxtlanense</i>	<i>M. sp. 1</i>	<i>M. sp. 2</i>	<i>M. acanthurus</i>	<i>M. acanthurus</i>	<i>M. acanthurus</i>	<i>M. acanthurus</i>
		Catemaco	Santiago	San Antonio	Sontecomapan	Montepío	Alvarado	Tabasco
1	<i>M. tuxtlanense</i>							
2	<i>M. sp. 1</i>		0.46					
3	<i>M. sp. 2</i>			0.50				
4	<i>M. acanthurus</i> S				0.62	0.61	0.57	0.52
5	<i>M. acanthurus</i> M				0.42	0.43	0.50	0.40
6	<i>M. acanthurus</i> A				0.55	0.54	0.55	0.52
7	<i>M. acanthurus</i> T							0.80
								0.81
								0.73
								0.71
								0.88
								0.80

$X = 0.493\%$ $SD = 0.024$
$X = 0.519\%$ $SD = 0.068$
$X = 0.788\%$ $SD = 0.055$

ESTADÍSTICAS CON
MATERIAL DE ORIGEN

TESIS CON
PALATE ORGAN

Tabla VIII. Debajo de la diagonal se presentan las distancias geográficas, en kilómetros para las siete poblaciones estudiadas.



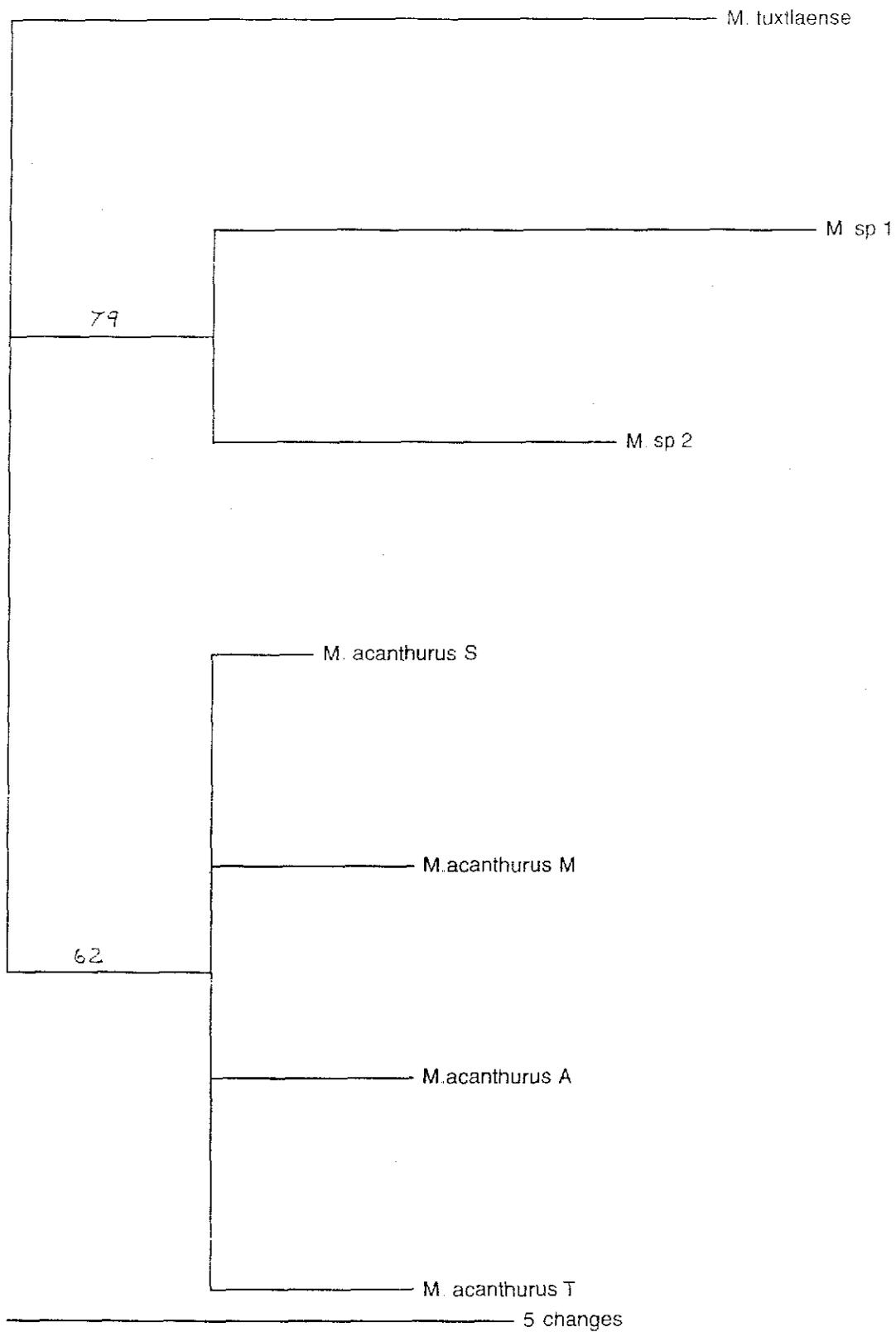


Fig. 9 Fenograma para siete poblaciones del género *Macrobracium* tomando como caracteres la presencia / ausencia de los alelos Mediante el método de parsimonia con un bootstrap = 100

Tabla IX. Frecuencias alélicas, por locus para las siete poblaciones de *Macrobrachium* en estudio

Locus	P O B L A C I O N						
	1	2	3	4	5	6	7
	Catemaco	Santiago	San Antonio	Sontecomapan	Montepio	Alvarado	Tabasco
MDH-1							
N / Alelos	48	36	28	35	30	35	30
1	0.083	0.000	0.000	0.000	0.117	0.000	0.000
2	0.646	1.000	0.929	0.771	0.650	0.629	1.000
3	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.208	0.000	0.071	0.229	0.233	0.371	0.000
ME-1							
N / Alelos	48	36	28	35	30	35	30
1	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.552	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.083
3	0.177	0.000	0.000	1.000	1.000	1.000	0.917
4	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
G6PDH-1							
N / Alelos	48	36	28	35	30	22	30
1	0.125	0.014	0.000	0.429	0.117	0.205	0.183
2	0.875	0.042	0.214	0.571	0.783	0.409	0.683
3	0.000	0.847	0.571	0.000	0.100	0.386	0.133
4	0.000	0.097	0.214	0.000	0.000	0.000	0.000
MPI-2							
N / Alelos	48	36	28	35	30	35	30
1	0.000	0.000	0.179	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.042	0.125	0.500	0.029	0.167	0.043	0.150
3	0.958	0.875	0.321	0.971	0.833	0.957	0.850
IDH-1							
N / Alelos	48	36	28	35	30	34	28
1	0.990	0.972	0.429	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.010	0.028	0.571	1.000	1.000	1.000	1.000
PGM-1							
N / Alelos	48	36	28	35	30	34	30
1	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.927	0.875	0.411	0.857	0.900	0.676	0.767
3	0.073	0.000	0.518	0.143	0.100	0.279	0.233
4	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.044	0.000
PGL-1							
N / Alelos	48	36	20	35	30	35	30
1	0.927	1.000	0.225	0.071	0.150	0.000	0.000
2	0.073	0.000	0.625	0.929	0.850	1.000	1.000
3	0.000	0.000	0.150	0.000	0.000	0.000	0.000
GOT-1							
N / Alelos	48	36	28	35	30	35	30
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.029	0.000
2	0.865	0.000	1.000	1.000	0.967	0.971	1.000
3	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.052	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

La I y D de Nei (1978), se muestran en la Tabla X , respectivamente. Para las poblaciones de desarrollo abreviado el promedio de la I entre ellas fue de 0.6757 ± 0.052 , y el de la D de 0.3999 ± 0.076 . Para las poblaciones de desarrollo extendido la I promedio fue 0.9780 ± 0.006 , y la D fue 0.0222 ± 0.007

El fenograma de distancia genética se obtuvo agrupando las distancias genéticas de Nei (1978), mediante el método de UPGMA (Fig. 10) después de un bootstrap de 10.000 permutaciones. Los valores de proporción de réplica que soportan cada nodo están entre 0.4341 y 0.9775, con un promedio de 0.61. Se distinguen dos grupos; el que conforman las poblaciones de *M. acanthurus* (con desarrollo completo) es una rama resuelta que ubica a las cuatro poblaciones de esta especie con una distancia no mayor a 0.0275 y una consistencia del 98%. El segundo grupo incluye a las poblaciones de desarrollo abreviado, aún cuando la población de *Macrobrachium* sp. 2 esta más cercana, en cuanto a distancia genética ($D = 0.38$), del grupo de las poblaciones de *M. acanthurus* que de las otras dos poblaciones de desarrollo abreviado. *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 tienen una distancia genética de 0.31 y están en una rama resuelta del fenograma (Fig. 10).

En la Tabla VIII, se presentan los valores de distancia geográfica (en kilómetros), entre las siete poblaciones en estudio. Al correlacionar el logaritmo de las distancias genéticas contra el logaritmo de las distancias geográficas, se observa que en las poblaciones con desarrollo abreviado hay una tendencia a encontrar mayor distancia genética a mayor distancia geográfica, lo que podría indicar un patrón de aislamiento por distancia. Sin embargo al realizar el test de Mantel para estas tres poblaciones se comprueba que no hay significancia estadística que soporte tal supuesto, (Z original = 4.3303, después de 10 000 permutaciones $Z = 4.1974$, $r = 0.9604$, $P = 0.1672$) (Fig. 11). Tampoco se encontró significancia estadística al aplicar el test de Mantel para la matriz de las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* (Z original = 0.6246 después de 10 000 permutaciones $Z = 0.6321$, $r = - 0.2070$, $p = 0.6703$) ni para la matriz las siete poblaciones estudiadas (Z original = 30.260 y después de 10 000

permutaciones $Z = 31.036$, $r = - 0.1731$, $p = 0.6713$)(Figuras 12 y 13). Sin embargo, en los tres casos los resultados deben tomarse con cautela, por el bajo número de poblaciones incluidas en los ensayos.

Tabla X Sobre la diagonal se presentan los valores de distancia genética y bajo la diagonal los de identidad genética de Nei (1978), para las siete poblaciones estudiadas.

		P O B L A C I O N						
		1	2	3	4	5	6	7
		<i>M tuxtlaense</i> Catemaco	<i>M</i> sp 1 Santiago	<i>M</i> sp 2 San Antonio	<i>M. acanthurus</i> Sontecomapan	<i>M. acanthurus</i> Montepio	<i>M. acanthurus</i> Alvarado	<i>M. acanthurus</i> Tabasco
1	<i>M tuxtlaense</i>		0.3108	0.4102	0.4569	0.4208	0.5521	0.4716
2	<i>M</i> sp 1	0.7328		0.4608	1.0225	1.0010	1.0148	0.9534
3	<i>M. sp 2</i>	0.6635	0.6308		0.4307	0.4158	0.3791	0.3225
4	<i>M. acanthurus</i> S	0.6633	0.3597	0.6501		0.0143	0.0215	0.0169
5	<i>M. acanthurus</i> M	0.6566	0.3675	0.6598	0.9858		0.0294	0.0192
6	<i>M. acanthurus</i> A	0.5757	0.3625	0.6845	0.9787	0.9711		0.0318
7	<i>M. acanthurus</i> T	0.6240	0.3854	0.7243	0.9832	0.9810	0.9687	

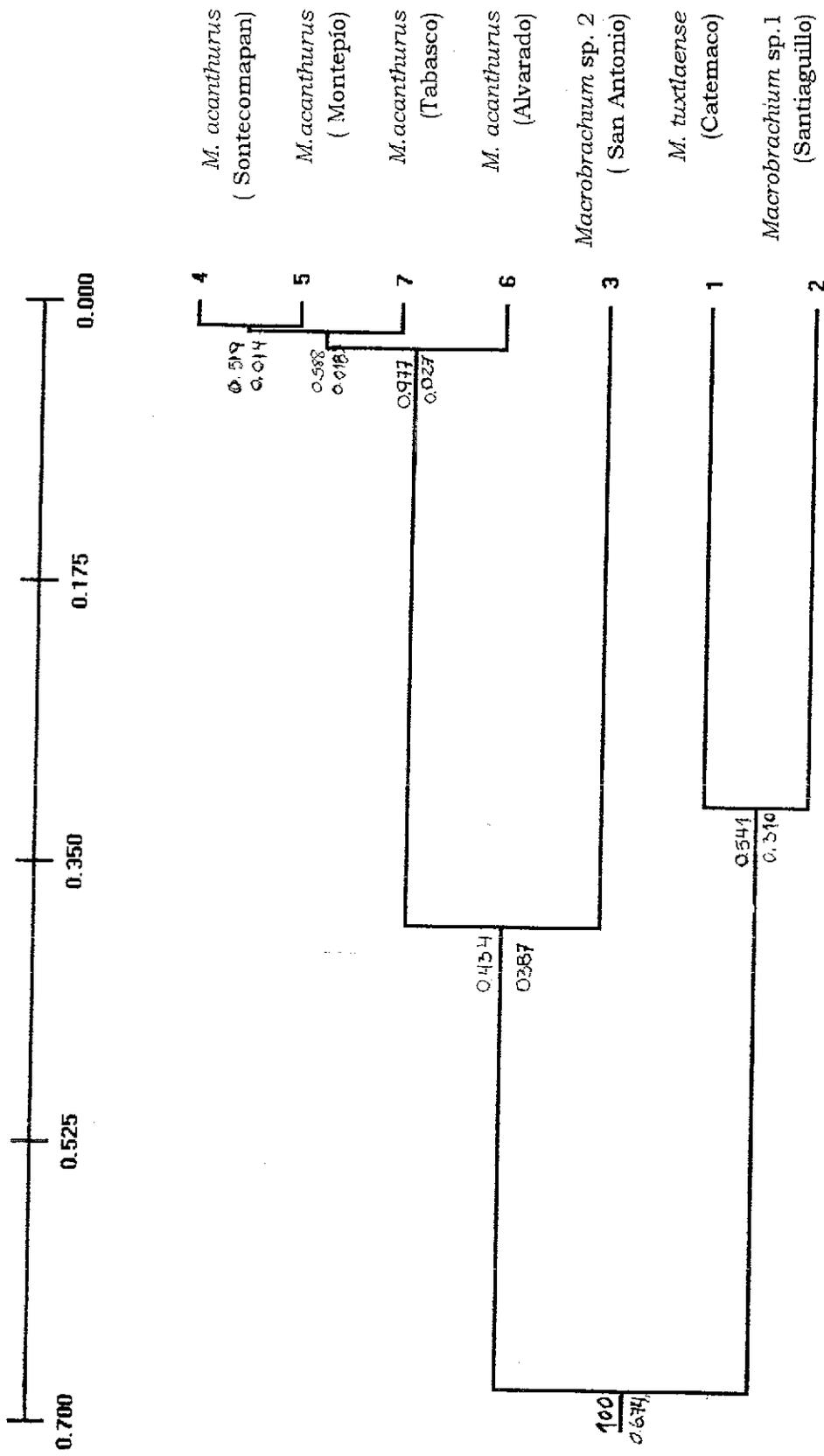


Fig. 10. Dendrograma que resume las distancias genéticas de Nei (1978) agrupadas por el método de UPGMA, para siete poblaciones del género *Macrobrachium*. Poblaciones con desarrollo abreviado (1 - 3), poblaciones con desarrollo completo (4-7). Sobre las ramas se muestra la proporción de réplicas similares, bajo la rama se indica las distancia genética.

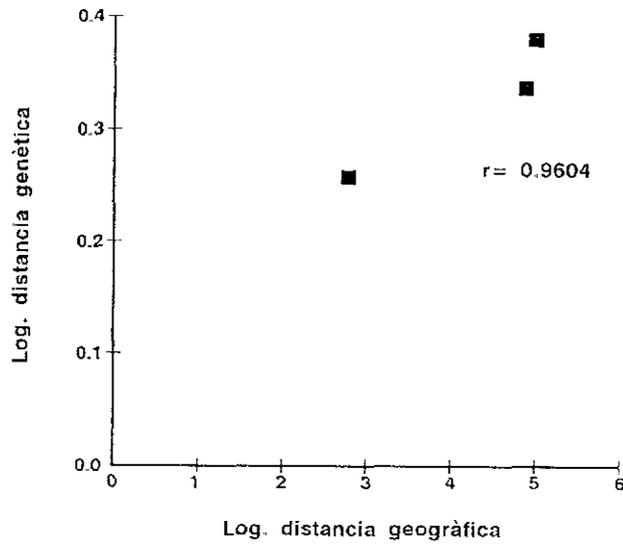


Fig. 11. Análisis de aislamiento por distancia para las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado. (Z original = 4.3303, Z después de 10 000 permutaciones = 4.1974, $r = 0.9604$, $p = 0.1672$).

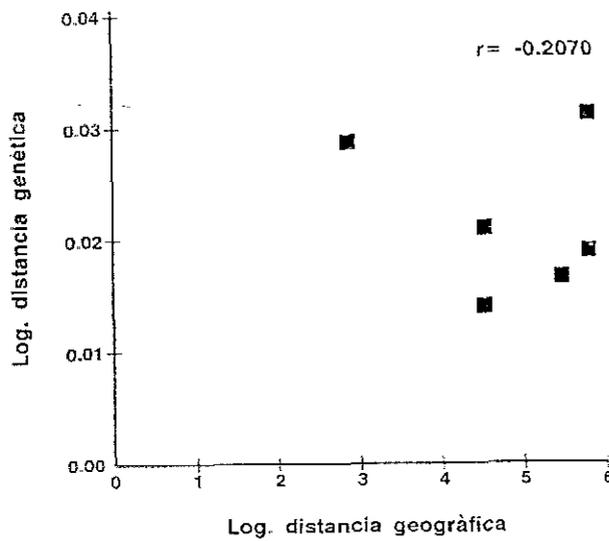


Fig. 12. Análisis de aislamiento por distancia para las cuatro poblaciones de *M. acanthurus*, con desarrollo completo. (Z original = 0.6244, Z después de 10 000 permutaciones = 0.6632, $r = -0.207$ y $p = 0.6637$).

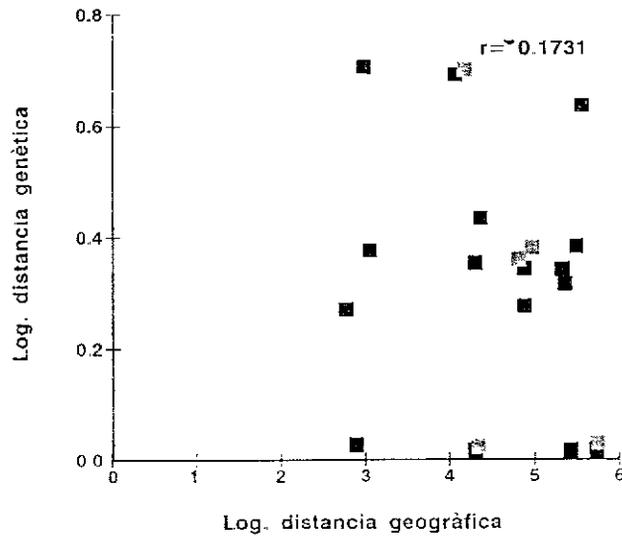


Fig. 13. Anàlisis de aislamiento por distancia para las siete poblaciones de *Macrobrachium* en estudio. (Z original = 30.260, Z después de 10 000 permutaciones = 31.036, $r = -0.1731$ y $p = 0.6713$).

Los índices de fijación (F) por enzima para cada población se muestran en la Tabla XI. Para las poblaciones de *Macrobrachium*, con desarrollo abreviado los dieciocho valores de F estimados, fueron positivos excepto para la *Mpi-1* en la población de *M. tuxtlaense* y la *Pgm-1* en las poblaciones de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp.1. La F para la *Idh-1* en la población de *M. tuxtlaense* es igual a cero lo que indica que la población está en equilibrio Hardy-Weinberg, para ese loci. De estos dieciocho índices de F estimados para las poblaciones con desarrollo abreviado, doce fueron significativamente positivos. Los promedios de F por población son +0.381; +0.535 y +0.655 para *M. tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2, respectivamente (Tabla XI).

Para las poblaciones de *M. acanthurus* se estimaron veinte índices de fijación de los cuales todos resultaron positivos, excepto para la *Mpi-2* y la *Got-1* de la población de Alvarado. De estos veinte valores de F , catorce son significativamente positivos y los promedios por población iguales a: +0.764; +0.619 y +0.467 para Sontecomapan, Montepío y Tabasco, los que fueron significativamente positivos. La población de Alvarado también tiene un F positivo, pero no significativo, $F = +0.346$ (Tabla XI). Se puede decir que, en general, los índices de fijación tanto para las poblaciones de desarrollo abreviado como para las de *M. acanthurus* (desarrollo extendido) son positivos y significativamente positivos en más de la mitad de los casos (68.4%), lo que pone de manifiesto un exceso de homocigotos en la población.

Los estadísticos F de Wright: F_{is} , F_{it} y F_{st} se muestran en las Tablas XII, XIII Y XIV, respectivamente. Están calculados por locus para: las siete poblaciones del género *Macrobrachium*, las cuatro poblaciones de *M. acanthurus*, las tres poblaciones de desarrollo abreviado, *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1, para *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2, para *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 y para el promedio de todos los loci de cada uno de estos grupos poblacionales.

Todos los valores de F_{is} (Tabla XII), para cada uno de los grupos poblacionales establecidos, para el análisis, en el párrafo anterior fueron significativamente positivos excepto para la *Got-1*, en el grupo de las cuatro

poblaciones de *M. acanthurus* y la Pgm-1 para todos los grupos de poblaciones de desarrollo abreviado. La Idh en el grupo de las poblaciones de *M. acanthurus* y la Me-1 y Got-1 en el grupo de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2, tienen valores iguales a cero. Las F_{is} promedio para todos los loci, por grupo de poblaciones, están en el intervalo de (0.42 - 0.62) y todos son significativamente positivos y distintos de cero. De los cuarenta índices significativamente positivos, el 60% tiene valores superiores a 0.50 tendientes a 1, lo que indica que las poblaciones tienen un exceso de homócigos. Esto permite pensar que la diferenciación entre las poblaciones se debe a la endogamia local.

Los valores de F_{it} (Tabla XIII), se comportaron de manera similar a las F_{is} . Todas las F_{it} por locus, para cada grupo poblacional, resultaron ser significativamente positivas excepto para la Pgm-1, en los grupos de poblaciones que incluyen a *M. tuxtleense* con *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 y *Macrobrachium* sp. 1, en el cual el valor obtenido resultó ser negativo y no significativo. La Idh-1 en el grupo de las poblaciones de *M. acanthurus* y la Me-1 en el grupo de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 tienen valores iguales a cero. De un total de 44 valores significativamente positivos, para todos los conjuntos de poblaciones del género *Macrobrachium*, en los ocho loci, el 72% tiene valores superiores a 0.50 con tendencia a uno, lo que puede indicar que la diferenciación entre poblaciones se deba a la endogamia local y deriva génica. Los valores promedio para todos los loci, por grupos de poblaciones, están en el intervalo de (0.64-0.84) y sin excepción son significativamente distintos de cero.

Los valores de F_{st} (Tabla XIV) se comportan de manera similar a los índices de F_{is} y F_{it} , (Tablas XII y XIII), respectivamente. Todos los valores de F_{st} por locus para cada grupo poblacional fueron significativamente positivos para todos los loci excepto para la Got, en el grupo de las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* y la Idh-1 en el grupo *M. tuxtleense* y *Macrobrachium* sp. 1. Los F_{st} para la Idh, en el grupo de las poblaciones de *M. acanthurus* y la Me-1, para el grupo de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 son iguales a cero. De los cuarenta y cuatro valores significativamente positivos, para todos los grupos

poblacionales establecidos, en los ocho loci, sólo el 35% fueron superiores a 0.5, esto debido a que el grupo de las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* para todos los loci presenta valores de F_{st} muy bajos tendientes a cero. Esto se hace notar al comparar los promedios de F_{st} para todos los loci por grupos poblacionales. El valor de F_{st} promedio, para las siete poblaciones *Macrobrachium* estudiadas fue de $F_{st} = 0.555$, pero al analizar las poblaciones por separado con la finalidad de determinar cuales son las que se diferencian, se tiene que el promedio de F_{st} para las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* es sólo de 0.0767, por lo tanto estas poblaciones son similares en términos de variación genética. Sin embargo, el valor de F_{st} para las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado fue de 0.501 y entre *M. tuxtlaense* - *Macrobrachium* sp. 1, *M. tuxtlaense* - *Macrobrachium* sp. 2 y entre *Macrobrachium* sp. 1 - *Macrobrachium* sp. 2 fue, de 0.5472, 0.4391 y 0.5717, respectivamente. Por lo tanto, son poblaciones distintas en términos de variación genética, que no comparten muchos de sus alelos y la mayor parte de la variación genética se observa entre las poblaciones más que dentro de ellas, ya que cada población está fija para algún (os) alelo(s). Sin embargo, los valores de F_{st} por loci para los pares de poblaciones de desarrollo abreviado no todos son altos, tendientes a uno, también se observan loci con valores tendientes a cero, lo que podría indicar que en este caso la diferenciación genética posiblemente sea generada por adaptación a condiciones locales mediante selección natural, además de la deriva génica que sugieren los altos valores de F_{st} para otros loci.

Los estimadores de variación genética más usados (H_s , F , F_{is} , F_{it} , F_{st}), determinados en este estudio se resumen en la tabla XV.

Tabla XI. Índice de fijación (F), por loci para una de las siete poblaciones estudiadas. Los * indican los valores significativos con $p < 0.05$.

Locus	<i>M. tuxtlensis</i>		<i>M. sp. 1</i>		<i>M. sp. 2</i>		<i>M. acanthurus</i>		<i>M. acanthurus</i>		<i>M. acanthurus</i>	
	Catemaco	Santiago	Santiago	San Antonio	Sontecomapan	Montepio	Alvarado	Tabasco				
MDH	0.2980*			0.4715*	0.8404*	0.9357*	1*					
ME	0.2794											0.3564
G6PDI1	0.8113*		0.3929*	1*	0.8850*	0.3675*	0.6537*	0.5236*				
MPI	-0.032		0.8746*	1*	1*	0.5281*	-0.03	0.3571*				
IDH	0		1*	0.4271*								
PGM	-0.067		-0.1271	0.3085	0.3099	0.2719	0.1225					0.6335*
PCH	0.8477*			0.7272*	0.7875*	0.6143*						
GOT	0.9152*					1*	-0.014					
Para todos los loci	0.3815*		0.5351*	0.6557*	0.7645*	0.6196*						0.4676*
(X)	0.42		0.5	0.3	0.26	0.3	0.16					0.13
(SD)												

Tabla XII. Valores de Fis para las siete poblaciones en estudio que incluyen a cuatro de *M. acanthurus* una de *M. tuxilaense*, y dos de *Macrobrychium* sp. 1 y 2. Los valores con * son significativos con $p < 0.05$.

Locus	7 poblaciones de <i>Macrobrychium</i>		Fis 4 poblaciones de <i>M. acanthurus</i>		Fis <i>M. tuxilaense</i> y <i>M. sp. (1)</i> y (2)		Fis <i>M. tuxilaense</i> y <i>M. sp. (1)</i> y <i>M. sp. (2)</i>		Fis <i>M. sp. (1)</i> y <i>M. sp. (2)</i>	
	I ⁹⁵	Fis	I ⁹⁵	Fis	I ⁹⁵	Fis	I ⁹⁵	Fis	I ⁹⁵	Fis
MDH	0.6929*	0.9338*	0.3247*	0.3016*	0.3244*	0.4739*				
ME	0.2955*	0.3591*	0.2845*	0.2831*	0.2842*	0				
G6PDH	0.6967*	0.6393*	0.7863*	0.6125*	0.9272*	0.7759*				
MPI	0.6663*	0.4358*	0.8314*	0.5810*	0.8145*	0.9614*				
IDH	0.4711*	0	0.4700*	0.6659*	0.3992*	0.5011*				
PGM	0.2329*	0.3216*	0.1131	-0.1019	0.204	0.1644				
PGI	0.7359*	0.6830*	0.7736*	0.8493*	0.7737*	0.7289*				
GGT	0.8119*	0.4959	0.9164*	0.9162*	0.9164*	0				
Todos los loci	0.5716*	0.6108*	0.5339*	0.4261*	0.5518*	0.6294*				
Bootstrapping	(0.4009 - 0.6962)	(0.3832 - 0.7992)	(0.3325 - 0.7416)	(0.2461 - 0.6640)	(0.3615 - 0.7719)	(0.3332 - 0.8578)				
(todos los loci al 95%)										

Tabla XIII. Valores de Fit para las siete poblaciones en estudio que incluyen a cuatro de *M. acanthurus* una de *M. tuxtlense*, y dos de *Macrobrachium sp.* 1 y 2. Los valores con * son significativos con $p < 0.05$.

Locus	Fit		Fit		Fit		Fit		Fit	
	7 poblaciones de <i>Macrobrachium</i>	4 poblaciones de <i>M. acanthurus</i>	<i>M. tuxtlense</i> y <i>M. sp (1)</i> y (2)	<i>M. tuxtlense</i> y <i>M. sp (1)</i>	<i>M. tuxtlense</i> y <i>M. sp (2)</i>	<i>M. sp (1)</i> y <i>M. sp (2)</i>	Fit	Fit	Fit	Fit
MDH	0.7306*	0.9112*	0.4366*	0.4531*	0.3978*	0.5049*				
ME	0.8354*	0.4014*	0.4911*	0.4906*	0.4752*	0				
G6PDH	0.8059*	0.6742*	0.9085*	0.9006*	0.9656*	0.7990*				
MPI	0.7474*	0.4574*	0.8954*	0.5931*	0.9123*	0.9752*				
IDH	0.9314*	0	0.7530*	0.6619*	0.7669*	0.7686*				
PGM	0.3523*	0.3434*	0.4154	-0.042	0.5209*	0.4954*				
PGI	0.9387*	0.7051*	0.9015*	0.8558*	0.9111*	0.9232*				
GOT	0.9646*	0.4948*	0.9873*	0.9877*	0.9212*	1*				
Todos los loci	0.8096*	0.6407*	0.7717*	0.7401*	0.7486*	0.8428*				
Bootstrapping (0.6819 - 0.8932) (0.4069 - 0.8176) (0.5925 - 0.9034) (0.3998 - 0.9050) (0.5794 - 0.8863) (0.6673 - 0.9600)										
todos los loci al 95%										

Tabla XIV. Valores de Fst para las siete poblaciones estudiadas que incluyen a cuatro de *M. acanthurus*, una de *M. tuxtilaense*, y dos de *Macrobrachium* sp 1 y 2. Los valores con * son significativos con $p < 0.05$.

Locus	Fst		Fst		Fst		Fst		Fst	
	7 poblaciones de <i>Macrobrachium</i>	4 poblaciones de <i>M. acanthurus</i>	M. <i>tuxtilaense</i> y M. sp (1) y (2)	M. <i>tuxtilaense</i> y M. sp (1)	M. <i>tuxtilaense</i> y M. sp (2)	M. <i>tuxtilaense</i> y M. sp (1)	M. <i>tuxtilaense</i> y M. sp (2)	M. sp (1) y M. sp (2)	M. sp (1) y M. sp (2)	
MDH	0.1229*	0.1116*	0.1658*	0.2169*	0.1086*	0.2169*	0.1086*	0.0588*	0.0588*	
ME	0.7663*	0.0659*	0.2888*	0.2894*	0.2668*	0.2894*	0.2668*	0	0	
G6PDH	0.3600*	0.0969*	0.5717*	0.7434*	0.5267*	0.7434*	0.5267*	0.1031*	0.1031*	
MPI	0.2431*	0.0383*	0.3798*	0.0285*	0.5273*	0.0285*	0.5273*	0.3594*	0.3594*	
IDH	0.8703*	0	0.5340*	-0.0119	0.6120*	-0.0119	0.6120*	0.5361*	0.5361*	
PGM	0.1557*	0.0322*	0.3408*	0.0544*	0.398*	0.0544*	0.398*	0.3961*	0.3961*	
PGI	0.7677*	0.0697*	0.5651*	0.0429*	0.6073*	0.0429*	0.6073*	0.7168*	0.7168*	
GOT	0.8120*	-0.0021	0.8486*	0.8529*	0.0583*	0.8529*	0.0583*	1*	1*	
Todos los loci	0.5555*	0.0767*	0.5101*	0.5472*	0.4391*	0.5472*	0.4391*	0.5758*	0.5758*	
Bootstrapping	(0.3357 - 0.7337)	(0.0359 - 0.0991)	(0.3469 - 0.6590)	(0.1558 - 0.7318)	(0.2973 - 0.5398)	(0.1558 - 0.7318)	(0.2973 - 0.5398)	(0.3069 - 0.8067)	(0.3069 - 0.8067)	
todos los loci al 95%										

Tabla XV Heterocigosis (H), Índice de fijación (F), Coeficiente de endogamia (Fis),
Diferenciación por endogamia y deriva génica (Fit) e Índice de fijación
subpoblacional (Fst), para las siete poblaciones en estudio.

	Hs (D.S)	F (D.S)	Fis	Fit	Fst
Todas las poblaciones	0.209 (0.08)	0.683 (0.14)	0.5716	0.8096	0.5555
<i>M. acanthurus</i>	0.187 (0.02)	0.723 (0.09)	0.6108	0.6407	0.0767
<i>M. tuxtlaense</i> y <i>Macrobrachium</i> sp. (1) y (2)	0.238 (0.11)	0.63 (0.17)	0.53	0.7717	0.5101
<i>M. tuxtlaense</i> y <i>Macrobrachium</i> sp. 1	0.172 (0.07)	0.574 (0.19)	0.4261	0.7401	0.5472
<i>M. tuxtlaense</i> y <i>Macrobrachium</i> sp. 2	0.309 (0.06)	0.562 (0.18)	0.5518	0.7486	0.4391
<i>Macrobrachium</i> sp. (1) y sp. (2)	0.233 (0.14)	0.755 (0.01)	0.6294	0.8428	0.5758
<i>M. tuxtlaense</i>	0.248 (0.07)	0.381			
<i>M.</i> sp. (1)	0.096 (0.04)	0.7675			
<i>M.</i> sp. (2)	0.371 (0.09)	0.74417			

4. Discusión

Los índices de Heterocigosidad y Polimorfismo presentan algunas desventajas por las que hay que tener cuidado en su aplicación. El polimorfismo es muy sensible al número y tipo de enzima, al comparar los resultados hay que tener cuidado con la subjetividad de usar el criterio del 95% o 99% y una tercera desventaja es el desconocimiento estadístico de la distribución de P. Respecto a la heterosis, este es un índice más confiable ya que es más robusto para el uso de distinto número y tipo de enzimas, sin embargo es más sensible a número de muestras pequeñas (Ayala y Kiger, 1984).

Al comparar los resultados de heterosis y polimorfismo, obtenidos para las poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado, en este estudio con los valores de variación genética reportados para especies epicontinentales (Tabla II) del mismo género, se desprende que las poblaciones aquí analizadas presentan altos valores de heterosis y polimorfismo principalmente las poblaciones de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp.2 ($H_e = 0.25; 0.37$) respectivamente. Solamente las poblaciones a y b de *Macrobrachium borelli* presentan valores de variación genética en igual orden de magnitud, sin embargo en ese estudio D' Amato y Corach, 1996 utilizaron marcadores RAPS', técnica que teóricamente presenta una mayor sensibilidad en el análisis

Los altos valores de heterosis obtenidos en el presente estudio se debe principalmente a que el número de loci analizado es menor que en cualquiera de los trabajos reportados en la tabla II y segundo a que en estos estudios la heterosis se determinó considerando el total de locus, tanto monomórficos como polimórficos, siendo estos últimos pocos en porcentaje, en cambio en este estudio se analizaron ocho loci (en su mayoría polimórficos) de los cuales después de aplicar el criterio del 95% con el que se discriminó el polimorfismo, las poblaciones de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2 presentaron un 75% de polimorfismo, este alto porcentaje pudo sobreestimar los valores de heterosis encontrados.

La población de *Macrobrachium* sp. 1 presenta el valor más bajo de heterosis en este estudio ($He = 0.096$), sin embargo este valor resulta ser más alto que lo reportado en promedio para crustáceos $He = 0.082$ (Nevo *et al.*, 1984) y para decápodos $He = 0.048$ (Hedgecock *et al.*, 1982). Se podría pensar que la población de *Macrobrachium* sp. 1 presenta menor heterosis que las otras dos poblaciones debido a la presencia de alelos fijos pero *Macrobrachium* sp. 2, que tiene la heterosis más alta reportada aquí, también presenta alelos fijos, entonces la diferencia radica básicamente en que esta última población tiene sistemas enzimáticos con dos o tres alelos dominantes que presentan similares valores de frecuencias alélicas.

Ahora bien, las diferencias en los valores de heterosis pueden atribuirse, además de lo planteado, al tipo de sistema enzimático utilizado. El efecto de loci específico sobre la variabilidad puede estar determinado por el tipo de enzimas que se utilicen en cada estudio; por ejemplo enzimas del Grupo I que son las que presentan un substrato generado intracelularmente (como las enzimas glucolíticas y las del ciclo del ácido cítrico) o si se utilizan enzimas del Grupo II con posibilidades de orígenes múltiples, no específicas que funcionan en las vías metabólicas periféricas, donde procesan una variedad de substratos (por ejemplo las esterasas, fosfatasas, deshidrogenasas), afectará de forma inequívoca la estimación de la heterosis. (Gillespie y Langley, 1974; Gillespie, 1991). En este estudio los ocho sistemas enzimáticos utilizados pertenecen al Grupo I, son enzimas centrales del metabolismo.

Nelson y Hedgecock (1986) proponen, para decápodos adultos, que las especies que escogen una estrategia adaptativa, de grano fino, presentan un mayor mecanismo de regulación fisiológica y conductual y además, son generalistas tróficos, mostrando bajos valores de heterocigosidad para las enzimas del grupo I y altos para las del grupo II. Por otro lado, las especies que se inclinan hacia una estrategia de grano grueso muestran menos eficientes mecanismos de regulación fisiológica y tienden a ser especialistas tróficos, presentando una heterocigosidad alta para las enzimas del grupo I y baja para las del grupo II. En nuestro caso las poblaciones de *Macrobrachium* de

desarrollo abreviado son habitantes de fondos de grano grueso. Se podría pensar que con un medio interno menos regulado ya que se han adaptado a un tipo de ambiente dulceacuicola sin pasar al medio salino en ningún estado de desarrollo por tanto no tiene que regular eficientemente su medio interno. En cuanto a la especificidad trófica, al menos las larvas lecitotróficas la presentan ya que se alimentan del vitelo contenido en el huevo hasta ser una larva librenadante con estructuras bucales funcionales y en estado adulto la especificidad trófica habría que determinarla con base al medio dulceacuícola oligotrófico en que habitan. Las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado efectivamente presentaron altos valores de heterocigosidad para las enzimas del Grupo I. Por lo tanto la hipótesis de Nelson y Hedgecock, 1986 aplica para las poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado, analizadas en este estudio.

Finalmente, con relación a los altos valores de variación genética encontrados en las poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado, en este estudio, se pueden considerar como un problema para su conservación desde el punto de vista genético y evolutivo, ya que para preservar la variación genética de una especie, entre mayor heterocigosis y polimorfismo presentan sus poblaciones, se va a requerir de un mayor número de ejemplares recolectados. Más aún, si se trata de las poblaciones que tienen una distribución puntual y están dentro de pequeños charcos o arroyos, que en un período de sequía podrían desaparecer con facilidad. O como la población de *M. tuxtlaense* que se pueden considerar, potencialmente, en peligro de extinción por presentar muchas limitaciones en su capacidad de dispersión y por ocurrir en un área que cada vez esta siendo más explotadas para forrajeo de ganado.

Uno de los resultados de la diferenciación genética, durante la especiación, es la sustitución de uno o de un grupo de alelos. El punto terminal de la sustitución de alelos es la fijación de uno de ellos en una población y la divergencia de loci durante el proceso de especiación (Ikerla *et al.*, 1992).

Entonces si las poblaciones están aisladas geográfica o reproductivamente, éstas pueden tender a acumular genes diferentes. En este

estudio la población de *M. tuxtlaense*, está separada geográficamente de la población de *Macrobrachium* sp. 1 por el Salto de Eyipantla. Si se pudiera pensar que ejemplares de *M. tuxtlaense* bajaran la cascada hasta alcanzar y mezclarse con las poblaciones de *Macrobrachium* sp.1 es más difícil suponer el caso contrario, que ejemplares *Macrobrachium* sp. 1, remontaran la cascada para mezclarse con las poblaciones de *M. tuxtlaense*, esto es un evento actualmente impracticable. La separación geográfica entre estas poblaciones se refleja en la presencia de alelos fijos en la población de *Macrobrachium* sp. 1 (Tabla V). En las últimas recolectas hechas en las áreas bajo la cascada del Salto de Eyipantla, siguiendo la rivera del río, se han encontrado otras poblaciones de desarrollo abreviado, cercanas geográficamente a *Macrobrachium* sp.1. Que posiblemente sean poblaciones de esa misma especie que están encerradas en ese lugar limitadas de dispersión por un lado por la imposibilidad de remontar la cascada y por el otro por no poder extenderse río abajo debido a la exclusión competitiva que ofrecen las poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo completo. Las poblaciones de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1, están separadas geográficamente de la población de *Macrobrachium* sp. 2 lo que también se refleja en la caracterización alélica de éstas poblaciones *Macrobrachium* sp. 1 tiene alelos fijos para cuatro locus enzimáticos (alelo 2 de la enzima Mdh-1 y Me-1, alelo 1 de la enzima Pgi-1 y alelo 4 de la Got-1). La población de *Macrobrachium* sp. 2, por su parte, presenta alelos fijos para el alelo 2 de las enzimas Me-1 y Got-1. (Tabla V). En base a estos resultados se aceptan ambas hipótesis de trabajo planteadas.

Los indicadores de identidad y distancia genética de Nei, (1972, 1978) se utilizan para medir de diferenciación genética en el proceso de especiación (Ayala y Kiger, 1984). La distancia genética es la diferencia genética entre poblaciones, expresada como frecuencia de genes. Nei (1972), desarrolló un método estadístico por el cual el número medio de diferentes codones por locus puede ser estimado desde los datos de frecuencia de genes. La técnica de electroforesis no puede detectar todas las diferencias de codones, por ello Nei (1972), propone una medida de distancia genética como índice para la

estimación del grado de divergencia genética entre especies de relación estrecha o cerrada. Asimismo, planteó que la distancia genética (D), en toda la variedad de animales, tiende a valores distintos dependiendo de la relación entre ellos, por ejemplo: entre especies es alrededor de 1.0; entre subespecies es alrededor de 0.1 y alrededor de 0.01 entre razas locales. Hedgecock *et al.* (1982), estima que los índices de similitud genética (I) entre especies, con los mismos genes, es de 0.59 ± 0.17 ($D=0.58 \pm 0.32$) basado en 40 especies y de 0.66 ± 0.15 ($D= 0.44 \pm 0.23$) entre 28 especies, incluyendo 17 géneros de crustáceos decápodos.

En este estudio la distancia genética entre las tres poblaciones de desarrollo abreviado, permite discriminar a nivel de especie. La distancia genética entre *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp.1 es de $D = 0.318$; entre *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp.2 es de $D = 0.410$ y entre *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 es de $D = 0.460$.

En el dendrograma obtenido a partir de las distancias genéticas de Nei (1978), (Fig.4C), las cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus*, están perfectamente agrupadas en una rama del árbol soportado por un 97.7% de réplicas similares y las poblaciones de desarrollo abreviado *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp.1 conforman una rama resuelta del dendrograma y *Macrobrachium* sp.2, que es la población genéticamente más variable, se ubica más cercana, en cuanto a distancia genética, a las poblaciones de *M. acanthurus* (con desarrollo completo), que a las otras dos poblaciones de desarrollo abreviado, quizás indicando una independencia del ambiente salobres más reciente que el de las otras poblaciones. Pero también se puede que la posición de los "otus" se vea distorsionada por los niveles de variación genética por ello se construyó un fenograma, como resultado del análisis de presencia / ausencia de caracteres, a partir de los alelos presentes en cada población. En este fenograma se corrobora la agrupación de las cuatro poblaciones de *M. acanthurus*, pero una segunda rama resuelta del fenograma agrupa a las poblaciones de desarrollo abreviado *Macrobrachium* sp.1 y *Macrobrachium* sp.2 dejando en una rama independiente de toda población a

Macrobrachium tuxtlaense. Estos resultados eran esperados ya que esta última población no tiene alelos fijos y es la que más presencia alelica presenta, sin embargo *Macrobrachium* sp.1 y *Macrobrachium* sp.2 presentan y comparten alelos fijos. Aunque esta ordenación de las poblaciones de desarrollo abreviado es distinta a la que presenta el dendrograma por distancia genética.

Una de las publicaciones más interesantes en relación a la distancia genética lo presenta el artículo de Armada (1993) quien estudiando 32 poblaciones de *Macrobrachium nipponense* encuentra una división en las poblaciones dependiendo de su habitat; habitantes de lagunas de agua dulce, habitantes de laguna salobre y habitantes estuarinos, dentro de cada grupo las distancias genéticas de las poblaciones son prácticamente iguales a cero y entre los grupos tenemos que; las estuarinas y las de lagunas salobre tienen una $D = 0.05$ y estos dos con el grupo de agua dulce tienen una $D = 0.026$. Estos valores indican que las poblaciones de *M. nipponense* analizadas son genéticamente iguales pero con distinta estrategia reproductiva, debida quizás a la presión por selección .

Para todas las poblaciones se detectó un exceso de homócigos al analizar el índice de fijación F y con los estadísticos de Wright (F_{is} , F_{st} , F_{it}), también se observa este exceso de homocigotos, por lo que se puede pensar que la diferencia entre las poblaciones se deba a la endogamia local. En el caso de la F_{it} , el 72% de los loci tienen un valor superior a 0.5 y la tendencia indica que la diferenciación entre poblaciones se debe a la endogamia local y a la deriva génica. Estos resultados corresponden con la realidad geográfica de estas poblaciones de crustáceos, con distribución puntual, separadas por el Salto de Eyipantla y distantes geográficamente.

El valor de F_{st} , para la combinación de las 7 poblaciones del género *Macrobrachium* estudiadas, fue alto ($F_{st}=0.555$). Pero al separar las poblaciones de *M. acanthurus* y determinar el F_{st} para ellas, éste valor es igual a 0.076, indicando evidentemente que se trata de poblaciones genéticamente iguales. En cambio, al trabajar con los pares de poblaciones de *Macrobrachium*, con desarrollo abreviado, las 3 combinaciones presentaron valores de F_{st} cercanos a

1, dando evidencia para afirmar que son poblaciones de especies genéticamente distintas y menos estables que las de *M. acanthurus*.

Los valores de F_{st} para las 3 poblaciones de *Macrobrachium*, con desarrollo abreviado, indican que éstas poblaciones son distintas en términos de variación genética, que no comparten muchos alelos y que la mayor parte de la variación observada está entre las poblaciones más que dentro de ellas. Pero, en los valores de F_{st} , por loci para pares de éstas poblaciones, no todos tienden a la unidad y por el contrario, varias de ellas están más próximas al cero, lo que indica que la diferenciación genética puede ser generada por adaptaciones locales, mediante selección natural, además del efecto de deriva génica.

Capítulo II

Ultraestructura del Apéndice Masculino

1. Introducción

1.1 Microscopía electrónica

Más de cuarenta años de aplicación a la biología no han agotado la utilidad de la microscopía electrónica. Lejos de ello, el desarrollo de los sistemas computacionales de análisis de imágenes y la complementariedad ofrecida por la microscopía óptica confocal, son algunos de los avances que han dado nuevo vigor y han redoblado el interés por la utilización biológica de la microscopía electrónica tanto de transmisión como de barrido (MEB).

El MEB proporciona imágenes y datos fisico-químicos de la superficie de cuerpos generalmente opacos a los electrones por medio de un delgado haz de electrones que recorre dicha superficie y de detectores que traducen las señales que de ella emanan transformándolas en corrientes eléctricas que se emplean en formar una imagen en un monitor de televisión (Vázquez y Echeverría, 2000).

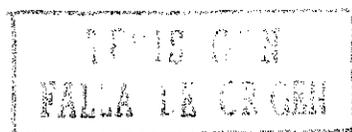
La utilización de la microscopía electrónica en el estudio de los crustáceos se ve impulsada desde la década de los 80 con los avances tecnológicos del MEB y por la publicación de técnicas específicas para la preparación de muestras y especímenes (Felgenhauer, 1987). Hoy en día, mediante técnicas específicas de MEB es posible describir detalles finos de estructuras como por ejemplo: el aparato reproductivo o copulatorio, aberturas genitales (gonóporos y espermatóforo), y células gaméticas, (Beninger *et al.*, 1991; Defaye *et al.*, 2000; Phillips and Macmillan, 1987; Rojas *et al.*, 1999; Tsuchida and Fujikura, 2000 y Sanocimang *et al.*, 2000).

El apéndice masculino es una estructura asociada al proceso copulatorio. Se encuentra ubicado en los basipoditos del segundo par de pleópodos sobre el inicio del endopodito y el borde interno del apéndice interno (Fig. 14). Es un

segmento pequeño de tamaño variable respecto al endopodito, su extremo distal es generalmente aplanado y está cubierto de cerdas en número y disposición variable dependiendo de la especie (Holtschmit, 1988).

El apéndice masculino es un carácter taxonómico utilizado en el grupo de los Palaemonidae para la determinación a nivel genérico y específico (Fleming, 1969; Villalobos y Hobbs, 1974; Strenth 1976, 1994). La importancia de éste apéndice radica principalmente en que es una estructura conservada que no sufre modificaciones con el medio ambiente, al igual que todas las estructuras reproductivas y las que tienen estrecha relación con el proceso copulatorio y/o reproductivo, en crustáceos decápodos. En el género *Macrobrachium* es una estructura que permite la diferenciación sexual ya que está presente sólo en los ejemplares machos.

La utilización del apéndice masculino como carácter taxonómico surge con la necesidad de clasificar algunas especies de *Palaemonetes* del sureste de los Estados Unidos. Holthuis (1952), había clasificado dos especies epígeas de *Palaemonetes* utilizando la espinación del caparazón, del telson y de los urópodos, pero posteriormente al querer clasificar ocho distintas especies de *Palaemonetes* de Estados Unidos utilizando los mismos caracteres no fue posible, por ello Fleming (1969), investigó los caracteres sexuales secundarios de machos del género *Palaemonetes* proponiendo toda una nomenclatura asociada al apéndice masculino, dando principal importancia al número de cerdas apicales y subapicales. Con esta nomenclatura logró clasificar sin problema seis de las ocho especies de *Palaemonetes* en estudio: *P. kadiakensis* (Rathbun, 1902) con tres cerdas apicales y una subapical; *P. paludosus* (Gibbes, 1850) con cuatro cerdas apicales y una subapical; *P. pugio* con cinco cerdas apicales y de uno a dos subapicales; *P. schmitti* con ocho cerdas apicales y una subapical; *P. suttkusi* (Smauley, 1964) con cinco cerdas apicales y una subapical y *P. antrorum* (Benedict, 1896) con dos cerdas apicales y tres subapicales. Las otras dos especies *P. vulgaris* y *P. intermedium* coinciden en presentar cuatro cerdas apicales y dos subapicales y comparten otros caracteres asociados al apéndice masculino, lo que hace prácticamente



imposible diferenciarlas sólo considerando los atributos de esta estructura; por ello se recurrió a utilizar la longitud del apéndice interno con relación al apéndice masculino. Posteriormente, Villalobos y Hobbs (1974), basándose en la nomenclatura establecida por Fleming (1969) clasificaron una nueva especie de *Palaemonetes* de San Luis Potosí, México, *P. lindsayi*, la cual presenta cuatro cerdas apicales y dos subapicales, al igual que *P. intermedium* y *P. vulgaris*, pero en *P. lindsayi* el apéndice masculino es tan largo como el endopodito y provisto de una fila de espinas a lo largo de casi toda su longitud.

Más tarde, Strenth (1976), en una revisión de la sistemática y zoogeografía de las especies de *Palaemonetes* de Norte América, caracteriza a *P. holthuisi* con nueve cerdas apicales, *P. texanus* con seis y a *P. mexicanus* con cinco cerdas apicales. Por último, Strenth (1994) describió a *P. hobbsi*, que presenta cuatro cerdas apicales, como *P. vulgaris* y *P. intermedium* pero que puede diferenciarse de estas últimas por la dentición del rostro, la morfología del primer maxilípodo y la producción isoenzimática.

Pereira (1986) describió para Venezuela, la especie *P. mercedae* y la caracteriza con la presencia de cuatro cerdas apicales y cuatro subapicales y con ocho espinas en la parte media distal del apéndice. Con los antecedentes planteados, respecto a la nomenclatura del apéndice masculino se puede señalar que las seis especies de *Palaemonetes* descritas actualmente para México, pueden ser clasificadas utilizando el número de cerdas apicales y subapicales del apéndice masculino.

Sin embargo, en la clasificación taxonómica de las especies del género *Macrobrachium* es poco común la utilización de los caracteres asociados al apéndice masculino.

Pereira (1986) esquematiza los caracteres del apéndice masculino para seis especies venezolanas del género *Macrobrachium*, atributos con los que podría diferenciarlas con éxito. El mismo autor en el año 1993, describió *M. depressimanum* basado sólo en la morfología de ejemplares machos adultos pero sólo esquematiza al apéndice masculino, como una estructura conspicua de 2.1 veces mayor longitud que el apéndice interno.

Sin embargo, de las quince especies de *Macrobrachium* descritas para México, en ninguna de las once de desarrollo completo se utiliza el apéndice masculino para caracterizarlas. Esta estructura ni siquiera es nombrada en las descripciones originales. En las cuatro especies de desarrollo abreviado descritas en estos últimos años, el apéndice masculino tampoco es considerado como un caracter importante en la clasificación a nivel específico, pero al menos es mencionado en las descripciones. Es así como para *M. villalobosi* se menciona que el apéndice masculino alcanza más allá de la mitad del endopodito (Hobbs, 1973); para *M. acherontium* se señala que el apéndice masculino alcanza cerca de dos veces la longitud del apéndice interno y que está provisto de espinas o cerdas (Holthuis, 1977). Villalobos y Alvarez (1999) en la descripción de *Macrobrachium tuxtlaense* indican que el apéndice masculino es esbelto, llegando al tercio distal del endopodito y que el borde mesial está provisto de dos filas de cerdas agudas. Román *et al.* (2000) en la descripción de *M. vicconi*, señalan que este apéndice es casi dos veces la longitud del apéndice interno y que está provisto de 16 pares de cerdas lisas dispuestas en los márgenes internos de la estructura.

Objetivos:

1. Determinar, mediante el estudio de la ultraestructura del apéndice masculino, si existen caracteres para identificar las especies de *Macrobrachium* tratadas en este estudio.
2. En particular se requiere determinar el número, disposición y ornamentación de las cerdas del extremo apical del apéndice masculino en los ejemplares machos de las siete poblaciones en estudio mediante microscopía electrónica de barrido.

2. Materiales y método

2.1 Identificación del sexo

El sexado de todos los ejemplares utilizados en el estudio se realizó mediante la observación al microscopio de disección del segundo pleópodo, que está conformado en todos los ejemplares por el exopodito, el endopodito y el apéndice interno. Adicionalmente, en los ejemplares machos el apéndice masculino se ubica junto al apéndice interno (Fig. 14). En todos los machos de cada población se cuantificó el número de cerdas apicales y la distribución de éstas en el apéndice mediante microscopía óptica; observaciones que fueron confirmadas con el análisis de microscopía electrónica de barrido de ocho ejemplares de cada población.

2.2 Ultraestructura del apéndice masculino mediante MEB

A ocho ejemplares machos de cada población se les disectó el apéndice masculino para ser observado en el microscopio electrónico de barrido y determinar la forma, el número y disposición de las cerdas del penacho apical. También se observó la ornamentación que pudieran tener las cerdas del apéndice en su parte apical, media y basal. Las muestras ya disectadas y limpias se colocaron en una batería creciente de alcoholes (80%-absoluto), durante 15 minutos en cada uno de ellos y luego se secaron a punto crítico lo que consiste en alcanzar el punto óptimo de secado bajo las siguientes condiciones: 1073 lb/in de presión y 35 – 40 °C de temperatura. Posteriormente, las muestras fueron montadas en soportes de bronce para recibir un baño de oro por ionización y ser observadas y fotografiadas. Finalmente, a tres muestras por población se les desprendieron todas las cerdas que portaba la estructura y se volvieron a recubrir de oro para ser nuevamente observadas, con la finalidad de describir de la mejor forma posible los rasgos de interés.

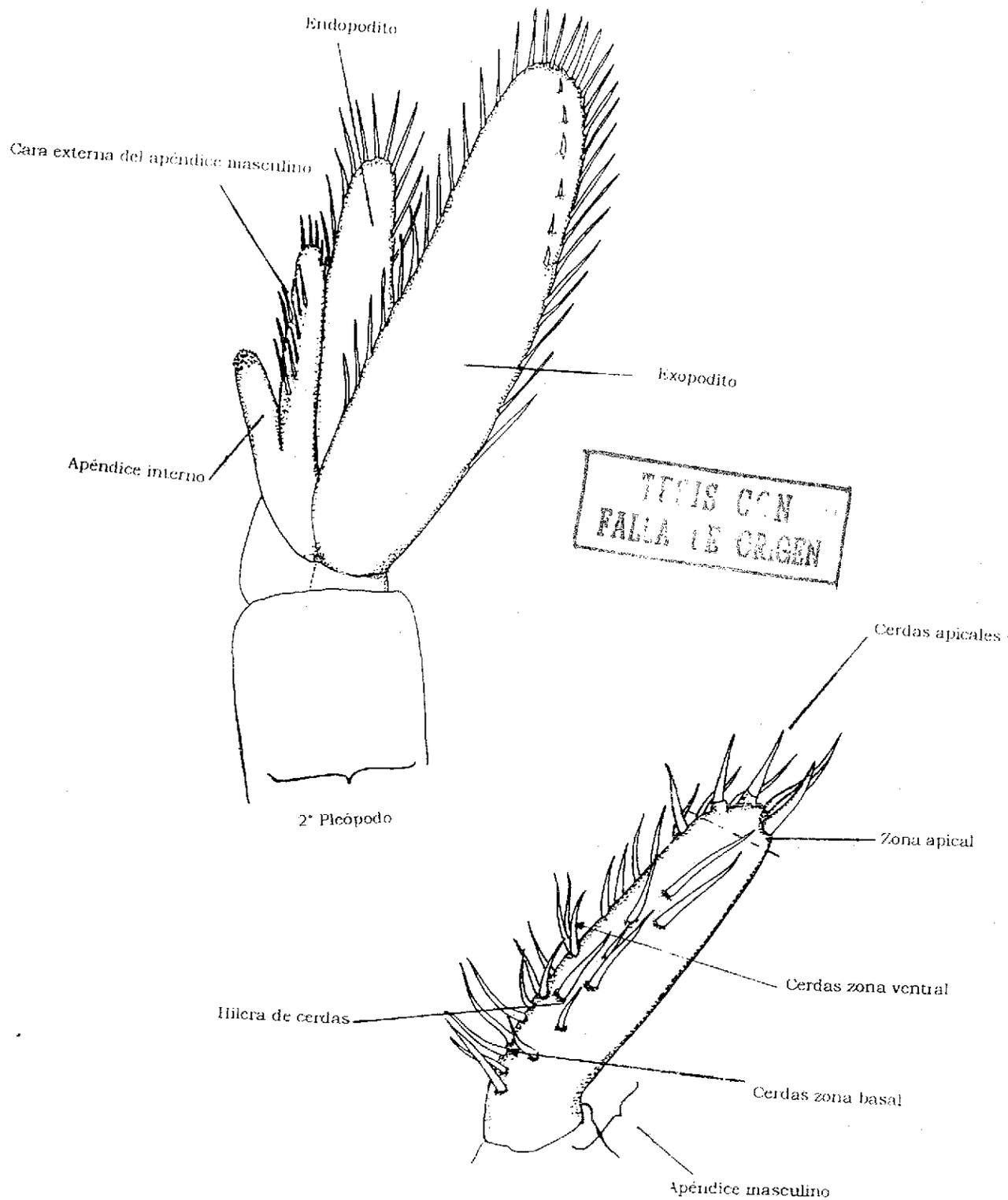


Figura 14. Esquema del apéndice masculino.

2.3 Presentación de los resultados

Los resultados se presentan como una descripción del apéndice masculino considerando tanto la forma de la estructura como el número y/o disposición y/u ornamentación de las cerdas apicales, medias y basales. Con la finalidad de ver en forma más clara las diferencias estructurales del apéndice masculino entre las distintas poblaciones se hizo una tabla resumen conteniendo los caracteres principales y para entender mejor la variación de estos caracteres entre poblaciones se hizo una matriz de presencia / ausencia de caracteres, la que se analizó mediante el método de parsimonia en el programa Paup, con un bootstrap de 100 réplicas.

3. Resultados

Macrobrachium tuxtlaense

Arroyo Las margaritas, Catemaco, Veracruz

(n = 8)

El apéndice masculino es elongado, tiene forma de vaina semicilíndrica (Fig. 15 a). Su extremo apical es redondeado y porta cuatro robustas cerdas (Figs. 15 b, c). Las cerdas apicales están provistas a su vez de espinas largas y delgadas dispuestas en hileras donde las espinas van encimándose una sobre la otra ó en otras hileras donde hay un espacio considerable entre una y otra espina (Fig. 15 d). A su vez, las espinas están ornamentadas con espínulas compuestas (Fig. 15 e). En la cara ventral del apéndice, hacia abajo y seguido del penacho apical, se extienden dos hileras paralelas de cerdas largas y delgadas que se dirigen hacia la base del apéndice formando una espiral (Figs. 15 f, g). En la cara lateral externa del apéndice masculino hay una hilera de

cerdas largas y delgadas ordenadas en pares escalonados (Fig. 15 h). La cara interna del apéndice carece de cerdas (Fig. 15 i).

Las cerdas de la parte central del apéndice están provistas de espinas largas y delgadas que a su vez están ornamentadas con espínulas semicompuestas (Figs. 15 j, k). Las cerdas de la parte basal de la estructura están provistas de espinas aún más delgadas y también ornamentadas con espínulas (Figs. 15 l, m).

Macrobrachium sp. 1

Arroyo Santiaguillo, Veracruz

(n = 8)

El apéndice masculino es elongado, tiene forma de vaina y está comprimido lateralmente (Fig. 16 a). Su extremo apical es también comprimido, dando una apariencia semicircular, porta tres robustas cerdas apicales dispuestas en hilera, más una cerda subapical (Figs. 16 b, c). Las cerdas apicales tienen espinas cortas y pequeñas no ornamentadas dispuestas en hileras o libres sobre la cerda, no se enciman o sobreponen (Figs. 16 d, e). Por la cara ventral de la estructura y a continuación del penacho apical se prolongan dos hileras paralelas de cerdas largas y delgadas que, al dirigirse hacia la zona basal, van formando una espiral (Fig. 16 f). Por el lado opuesto a la cerda subapical (cara externa de la estructura) hay una hilera de cerdas largas y delgadas sin orden aparente (Fig. 16 g). La cara interna de la estructura carece de cerdas (Fig. 16 h).

Las cerdas de la parte central del apéndice tienen espinas largas y delgadas en hileras que recorren toda la cerda, en forma perfectamente ordenada una tras otra y están ornamentadas con espínulas compuestas (Figs. 16 i, j). Las cerdas de la zona basal presentan espinas muy delgadas también ordenadas en hileras pero carentes de ornamentación (Fig. 16 k).

Macrobrachium sp. 2

Arroyo San Antonio, Tabasco

(n = 8)

El apéndice masculino es elongado de apariencia cilíndrica y su extremo apical es aplanado (Figs. 17 a, b). Porta cinco cerdas, generalmente, una en el centro del ápice y las otras cuatro rodeando a ésta (Figs. 17 c, d). Las cerdas apicales están armadas con espinas que corren en hileras longitudinales a través de toda la cerda. Las espinas son robustas y están provistas de espínulas compuestas (Fig. 17 e, f). Longitudinal al apéndice y a continuación del penacho apical se proyectan dos hileras paralelas de cerdas largas, poco abundantes, que se dirigen al extremo basal formando una espiral (Fig. 17 g). En la cara lateral externa del apéndice hay una hilera de cerdas cortas sin orden aparente (Fig. 17 h). La cara lateral interna, de la estructura, carece de cerdas (Fig. 17 i).

Tanto las cerdas de la zona media como las del extremo basal tienen hileras longitudinales de espinas cortas y robustas que no se sobreponen y que pueden o no estar ornamentadas con espínulas (Fig. 17 j).

Macrobrachium acanthurus

Laguna de Sontecomapan, Veracruz

(n = 8)

El apéndice masculino es cilíndrico, elongado, más angosto hacia el extremo apical (Fig. 18 a). La base del extremo apical es semicurva (Fig. 18 b) y porta seis cerdas robustas dispuestas en dos hileras paralelas que pueden tener cuatro y dos cerdas, respectivamente, o tres y tres (Figs. 18c, d y e). Las cerdas apicales tienen espinas cortas y anchas en su base, semejantes a un triángulo equilátero, muy adheridas a la cerda. Estas espinas se disponen en

hileras longitudinales cortas que no necesariamente recorren toda la cerda, las espinas se ubican distantes una de otra (Fig. 18 f). Por la parte ventral de la estructura y a continuación del penacho apical se extienden dos hileras de cerdas una con cerdas largas y delgadas y la otra con cerdas cortas (Fig. 18 g). Por la cara lateral externa del apéndice se extienden dos hileras de cerdas largas y delgadas (Fig. 18 h). La cara lateral interna carece de cerdas (Fig. 18 l).

Las cerdas de la zona media del apéndice pueden o no tener espinas (18 i, j). En el caso de tenerlas éstas no son ornamentadas y no tienen orden aparente (Fig. 18 j). Las cerdas basales, en cambio, tienen espinas largas no ornamentadas bien adheridas a la cerda, que se disponen en hileras, donde van una tras otra, sin dejar espacio libre entre ellas y sin sobreponerse (Fig. 18 k).

Macrobrachium acanthurus

Montepío, Veracruz

(n = 8)

El apéndice masculino en los ejemplares de esta población tiene un aspecto semicilíndrico. El extremo apical es semicurva y porta seis cerdas dispuestas en dos hileras paralelas, una con cuatro y otra con dos cerdas respectivamente (Figs. 19 a, b y c). Las cerdas apicales carecen de espinas (Fig. 19 d). Por la parte ventral del apéndice y a continuación del penacho apical se proyectan dos hileras de cerdas que se extienden hacia la parte basal de la estructura formando una espiral. En la hilera externa las cerdas son más abundantes y van en pares alternados (Fig. 19 e, f). La hilera paralela a ésta tiene pocas cerdas dispuestas una tras otra, ésta hilera no llega a la base del apéndice. En la cara lateral externa de la estructura se extiende una hilera de cerdas delgadas que van ordenadas en pares alternados (Fig. 19 g). La cara lateral interna de la estructura carece de cerdas (Fig. 19 h).

Las cerdas de la zona media del apéndice tienen hileras de espinas no ornamentadas ordenadas una tras otra pero sin encimarse (Figs. 19 i, j y k). Las cerdas de la zona basal tienen escasas espinas ornamentadas (Figs. 19 l, m).

Macrobrachium acanthurus

Laguna de Alvarado, Veracruz

(n = 8)

El apéndice masculino en esta población tiene un aspecto de vaina aún cuando es semicilíndrico (Figs. 20 a, b). La base del extremo apical es semiredonda y porta seis cerdas dispuestas en dos hileras paralelas las que tienen cuatro y dos cerdas, respectivamente (Figs. 20 c, d y e). Las cerdas apicales no tienen espinas (Figs. 20 f, g). Por la parte ventral del apéndice y a continuación del penacho apical se proyectan dos hileras de cerdas delgadas y abundantes dispuestas en pares alternados. Las hileras de cerdas se dirigen hacia el extremo basal de la estructura formando una espiral (Fig. 20 h, i). En la cara lateral externa de la estructura se extiende una hilera de cerdas largas y delgadas, ordenadas en tríos alternados (Figs. 20 j, k, l). La cara lateral interna carece de cerdas (Fig. 20 k). Las cerdas de la zona media y basal del apéndice portan largas espinas no ornamentadas y sin orden aparente (Figs. 20 l, m).

Macrobrachium acanthurus

Laguna Horizonte, Tabasco

(n = 8)

El apéndice masculino es elongado hacia el extremo apical. La base del extremo apical es semicurvo (Figs. 21 a, b) y porta seis o siete cerdas robustas

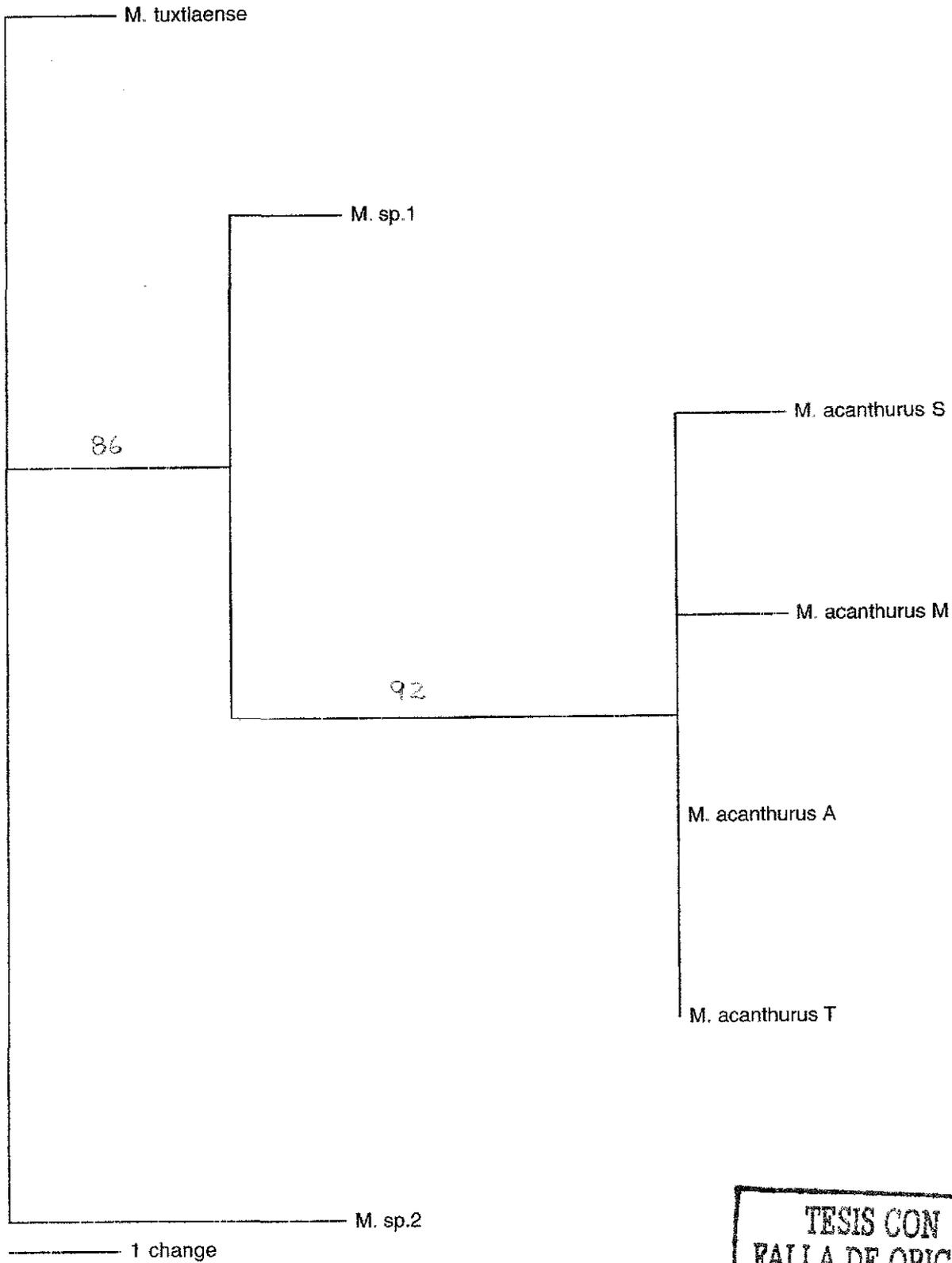
dispuestas en dos hileras paralelas, una con cinco cerdas (o seis) y la otra con dos (o una) (Figs. 21 c, d, e y f). Las cerdas apicales no tienen espinas (Figs. 21 g, h). Por la parte ventral del apéndice y a continuación del penacho apical se extienden dos hileras de numerosas cerdas largas y delgadas, en una de las hileras las cerdas van una tras otra, en cambio en la hilera paralela las cerdas son muchas más y van dispuestas en pares alternados (Fig. 21 i). En la cara lateral externa del apéndice se extiende una hilera de abundantes cerdas más largas y delgadas ordenadas en pares o tríos alternados (Figs. 21 j). La cara lateral interna carece de cerdas (Fig. 21 k). Las cerdas de la zona media (Figs. 21 l, m) del apéndice masculino, como las de la zona basal, tienen, (Figs. l, m, n escasas espinas no ornamentadas sin orden aparente (Figs. 21 n,o, p).

En la tabla XVI se resumen las principales características del apéndice masculino de cada población, en relación a forma del apéndice, forma del ápice del apéndice, número de cerdas apicales y presencia de espinas, espinulas y/o espinulillas en las cerdas apicales, medias y basales del apéndice masculino.

Utilizando la presencia / ausencia de los caracteres se construyó una matriz de (7 x 13), mediante el método de parsimonia con un bootstrap de 100 réplicas se obtuvo el fenograma de la figura 22. En el que se observan tres ramas principales, formando una politomía. Una rama separa completamente a la población de *Macrobrachium tuxtlaense* y otra a la de *Macrobrachium* sp. 2. La tercera rama esta sustentada por un 86% y resuelve por un extremo a la población de *Macrobrachium* sp. 1 y por el otro agrupa a las cuatro poblaciones de *M. acanthurus*, sustentando esta agrupación con un 92%. Las poblaciones de *M. acanthurus* de Alvarado y Tabasco son idénticas, en cuanto a caracterización de la ultraestructura del apéndice masculino, se refiere al igual que las poblaciones de *M. acanthurus* de Sontecomapan y Montepío. Estas dos últimas poblaciones de *Macrobrachium acanthurus* se diferencian de las poblaciones de Sontecomapan y Montepío en un cambio de extensión de rama (Figura 22).

Tabla XVI Tabla comparativa de la ultraestructura del apéndice masculino de las siete poblaciones de *Macrobrachium* estudiadas.

	Forma del apéndice	Forma del ápice	Número de cerdas apicales	Espinas en cerdas apicales	Espínulas en espaldas	Espínula en espaldas	Espinas en cerdas medias	Espínula en espaldas medias	Espinas en cerdas basales	Espínulas en espaldas basales
Catemaco	elongado semicilíndrico	redondeado	4	sí	sí	sí	sí	sí	sí	sí
Santiago	elongado comprimido	comprimido	3	sí	no	no	sí	sí	sí	sí
Sau Antonio	elongado cilíndrico	aplanado	5	sí	sí	sí	sí	sí / no	sí	sí / no
Sonteco-mapan	cilíndrico elongado	semicurvo	6	sí	no	no	sí / no	no	sí	no
Montepío	semicilíndric	semicurvo	6	no	no	no	sí	no	sí	sí
Alvarado	semicilíndric	semiretortud	6	no	no	no	sí	no	sí	no
Tabasco	elongado	semicurvo	6 ó 7	no	no	no	sí	no	sí	no

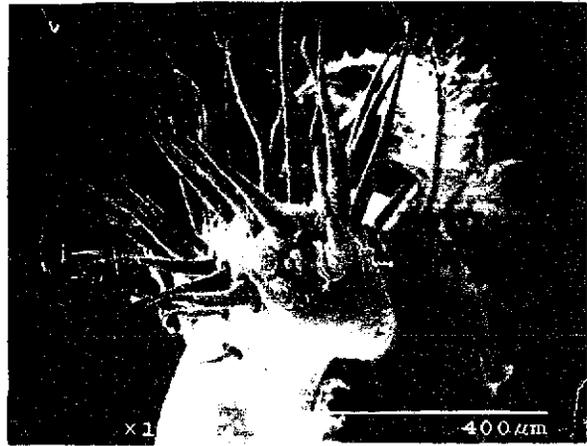


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

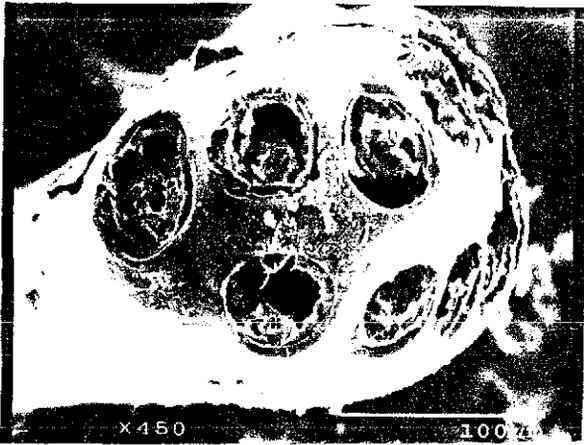
Fig. 22. Fenograma para las siete poblaciones del género *Macrobrachium* tomando como caracteres la presencia/ausencia de los atributos del apéndice masculino. Mediante el método de parsimonia con un bootstrap = 100.



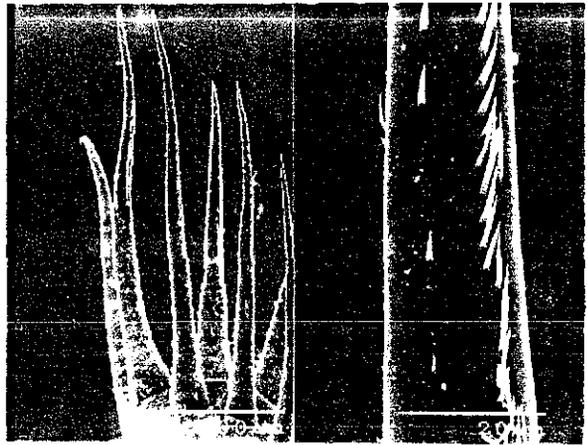
A



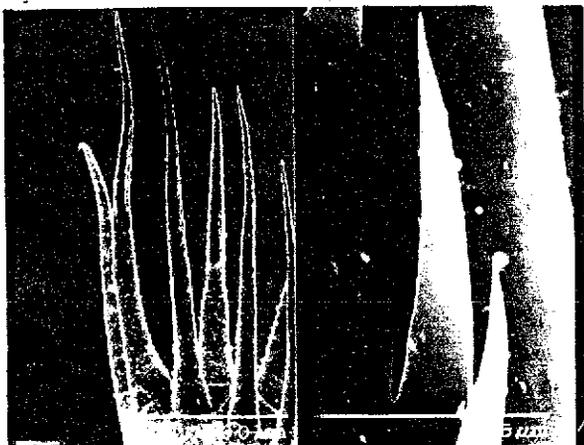
B



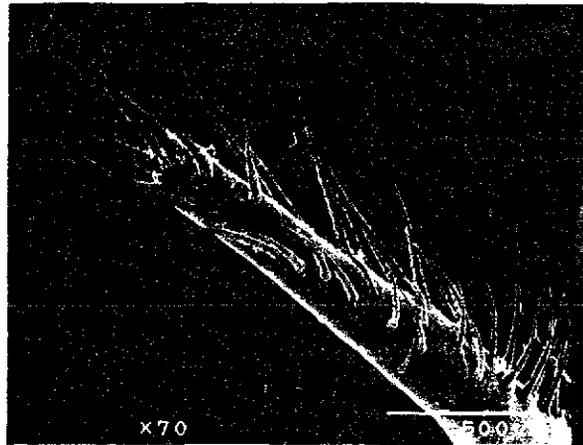
C



D

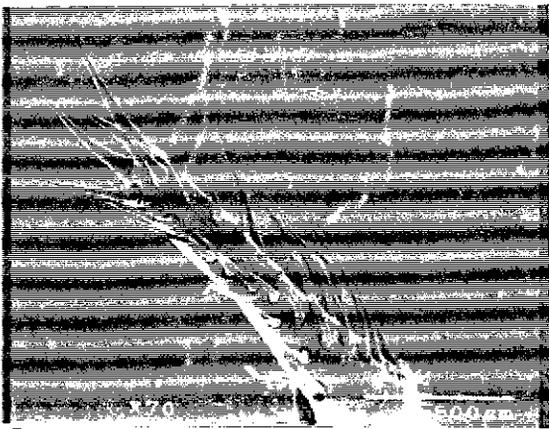


E

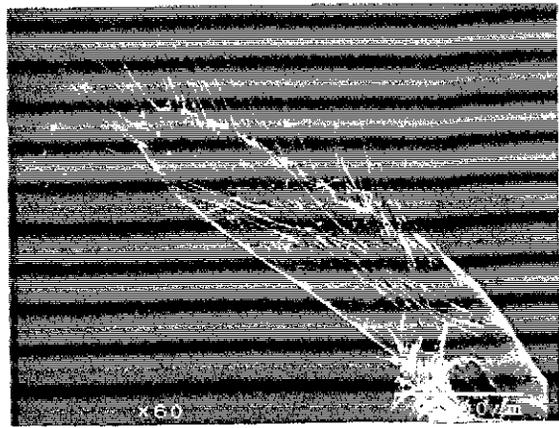


F

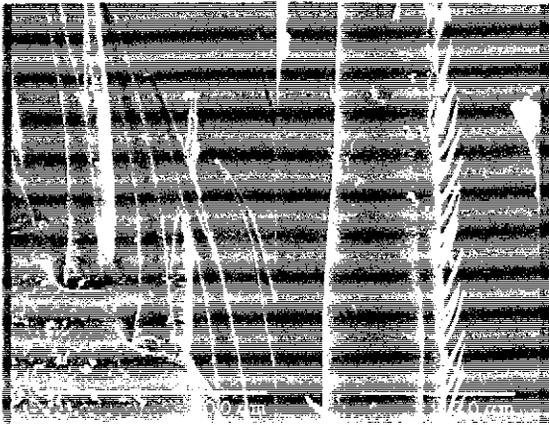
TESIS CON
FALLA LE CRISTEN



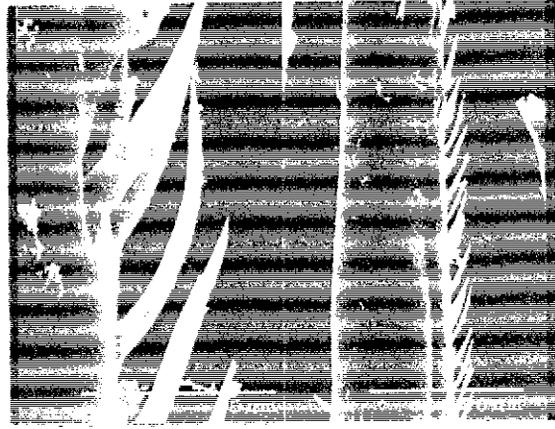
G



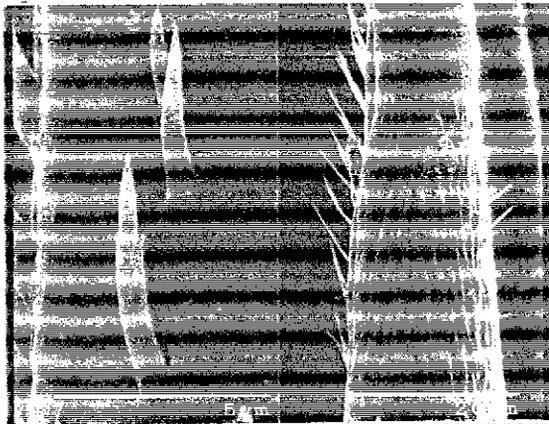
H



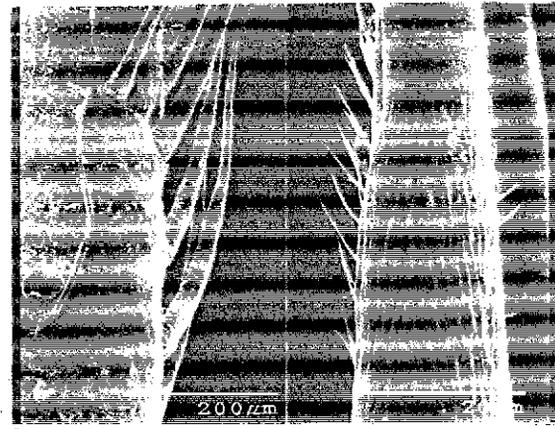
I



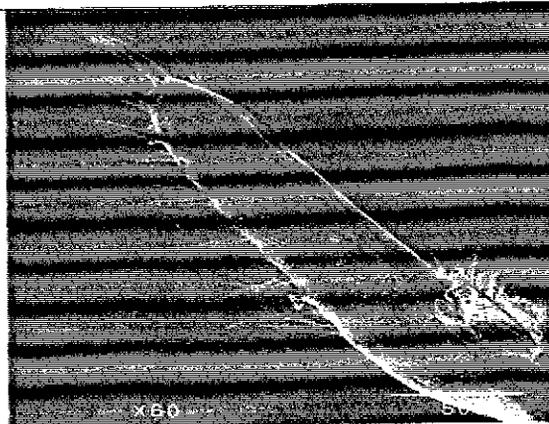
J



K

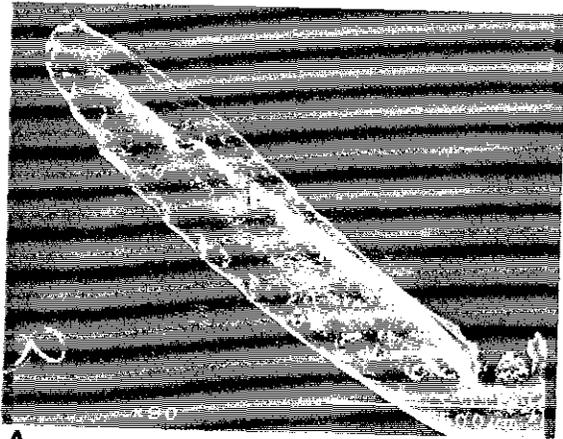


L

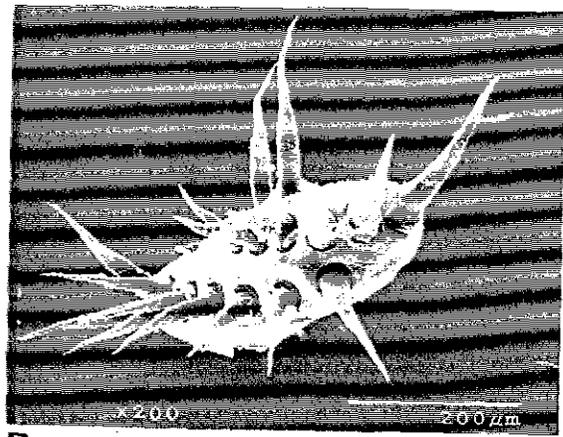


M

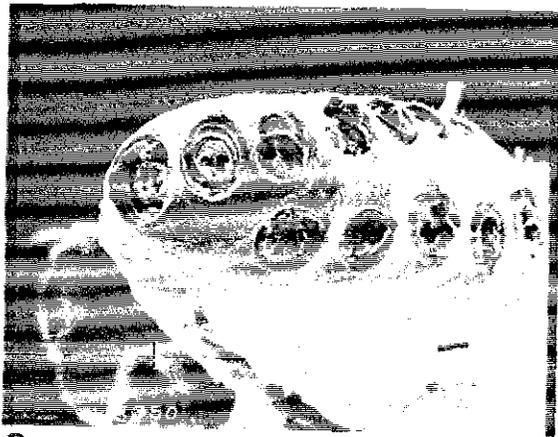
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



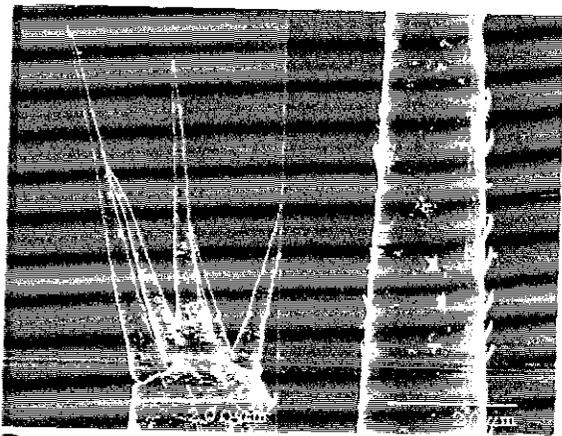
A



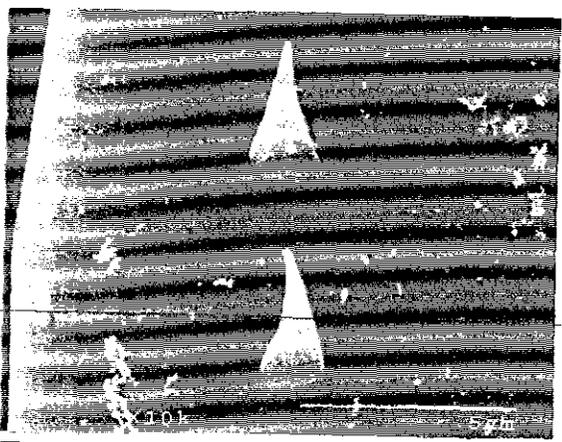
B



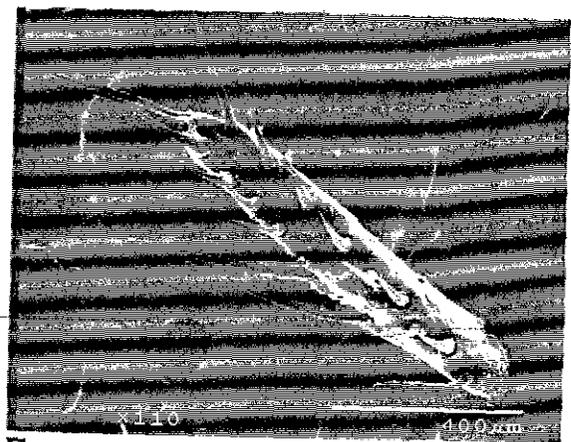
C



D

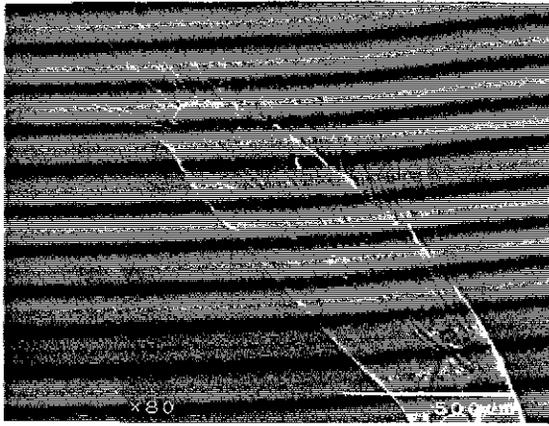


E

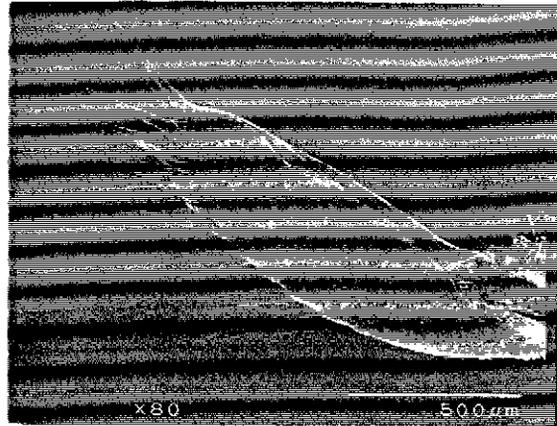


F

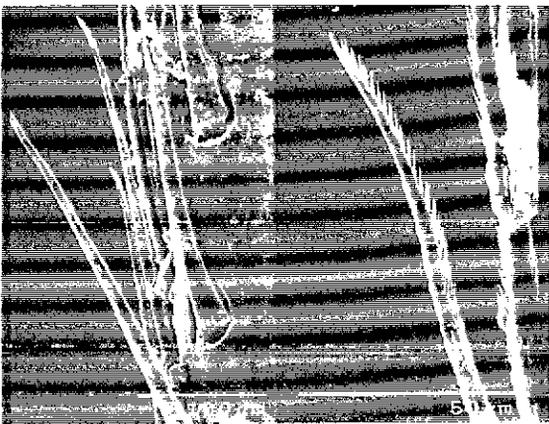
LEVIS CON
TALLA DE ORIGEN



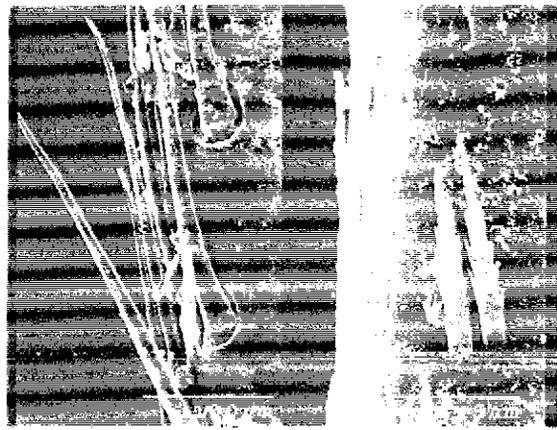
G



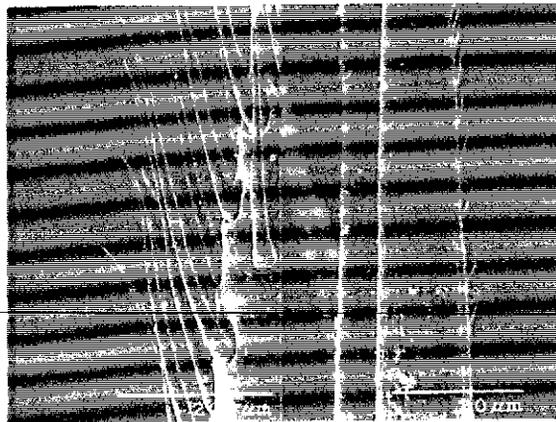
H



I

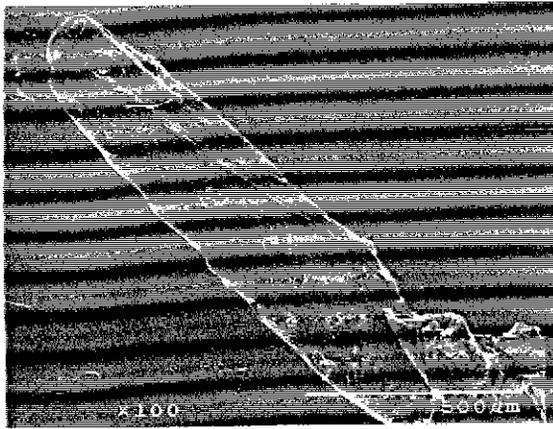


J

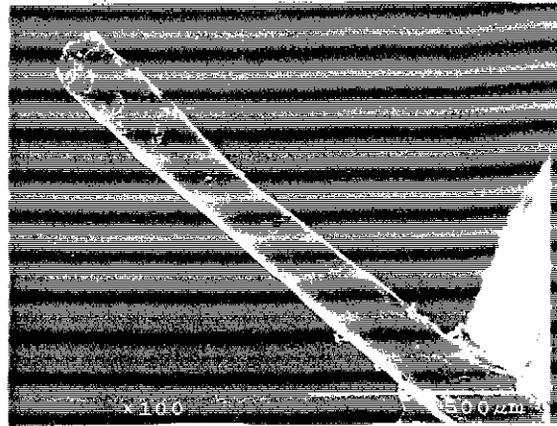


K

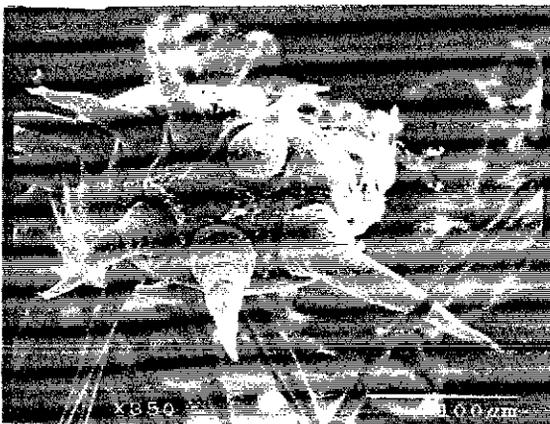
SECCO N
FALLA DE ORIGEN



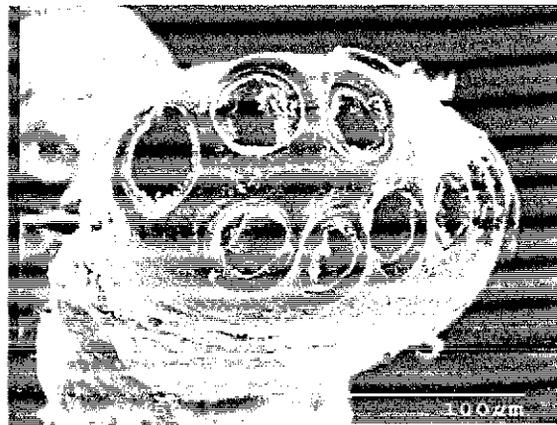
A



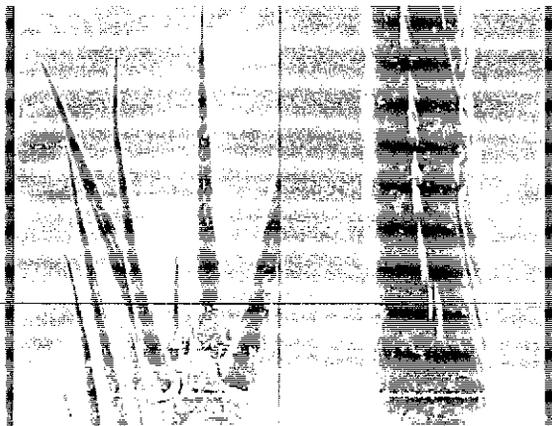
B



C

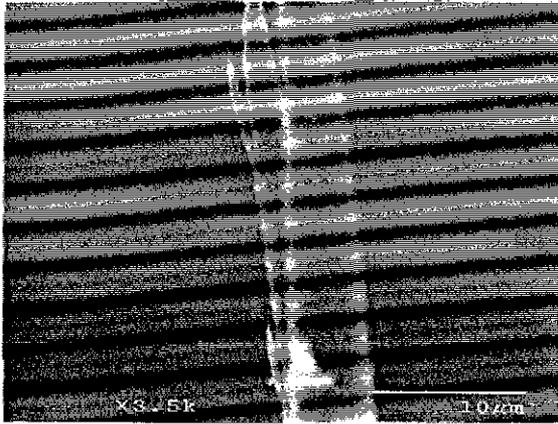


D

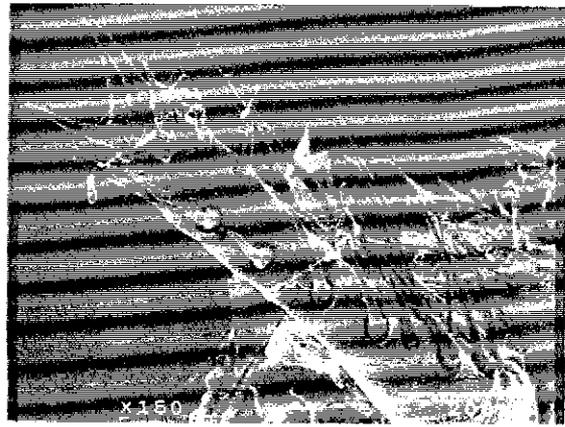


E

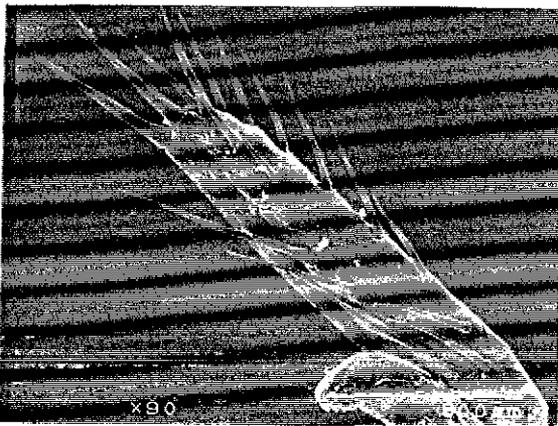
IPSIS NON
PEDIA 16 GREEN



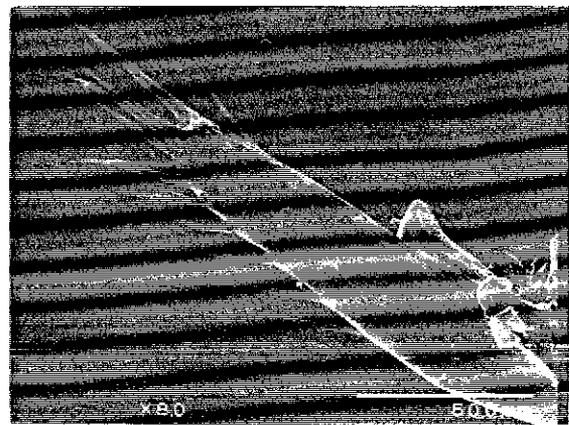
F



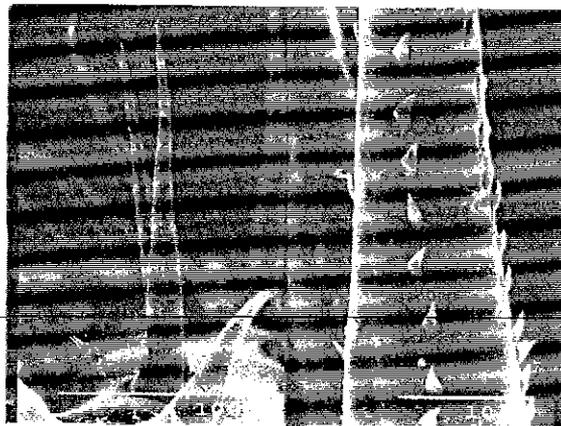
G



H

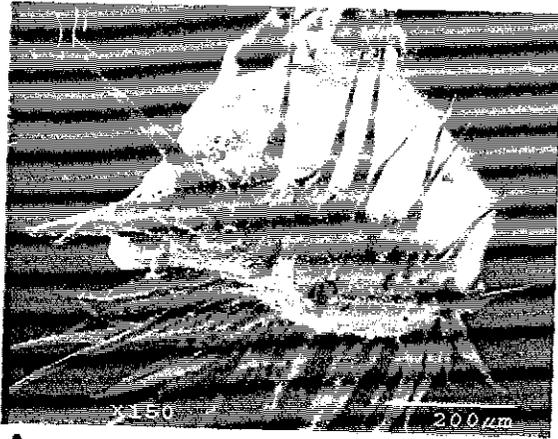


I

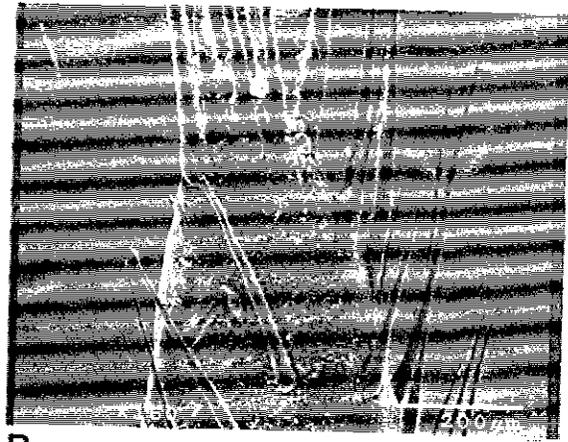


J

TESIS CON
DALLA LE CR.OEN



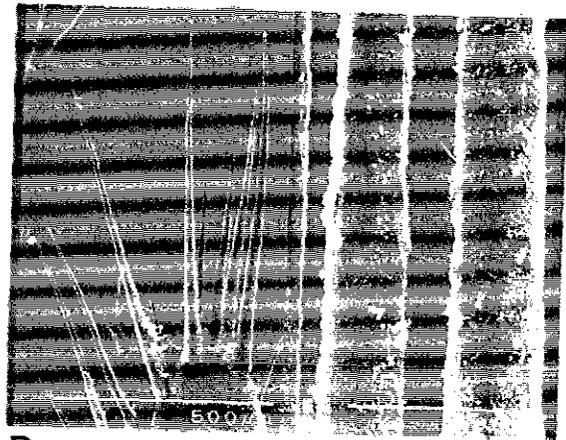
A



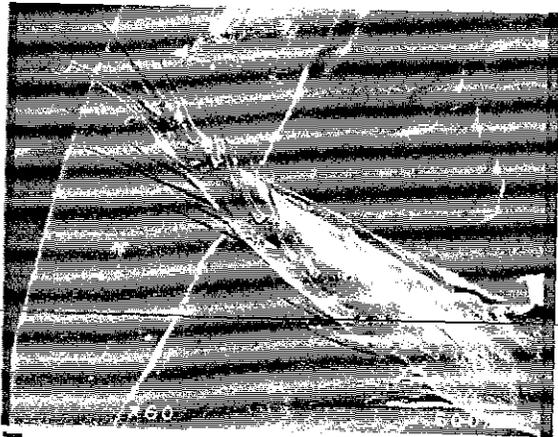
B



C



D

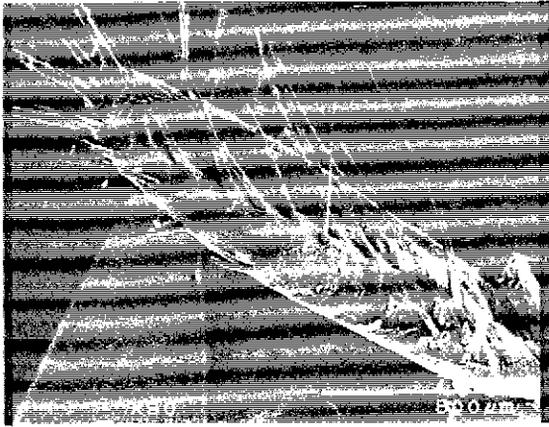


E

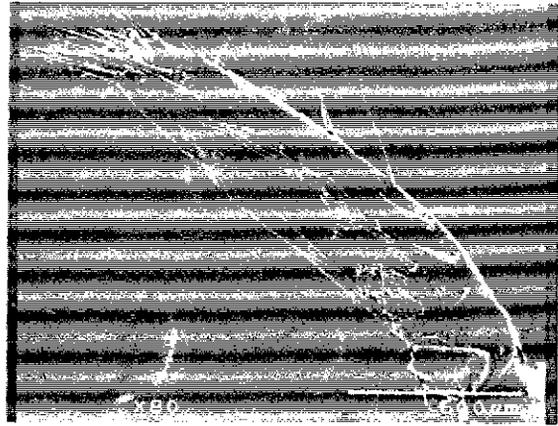


F

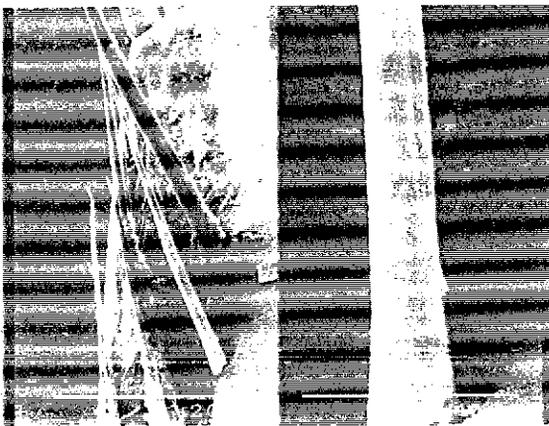
TESIS CON
DALLA LE ORIGIN



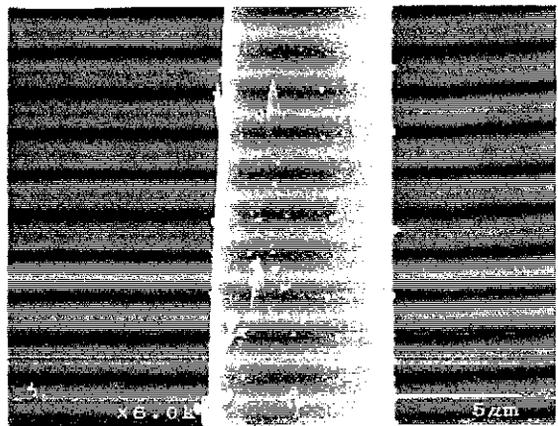
G



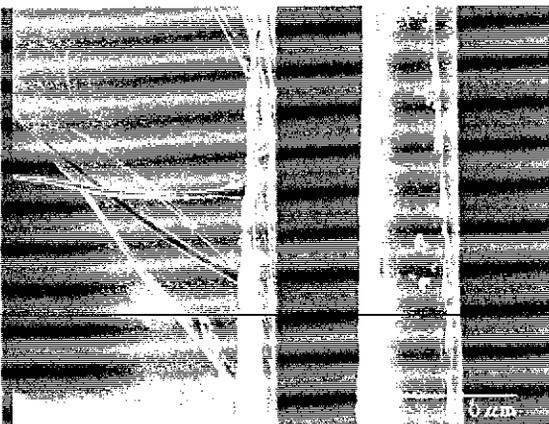
H



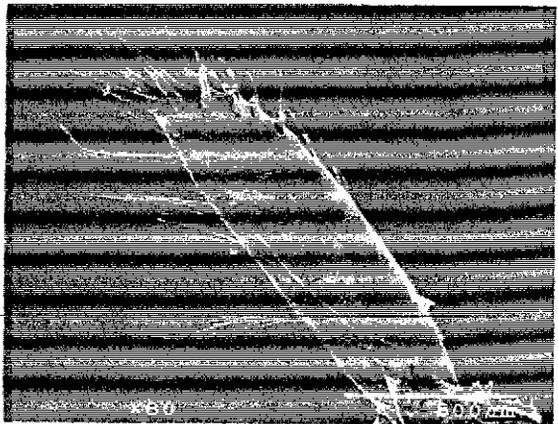
I



J

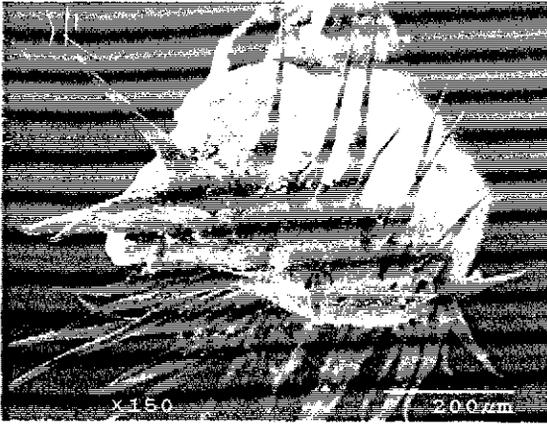


K

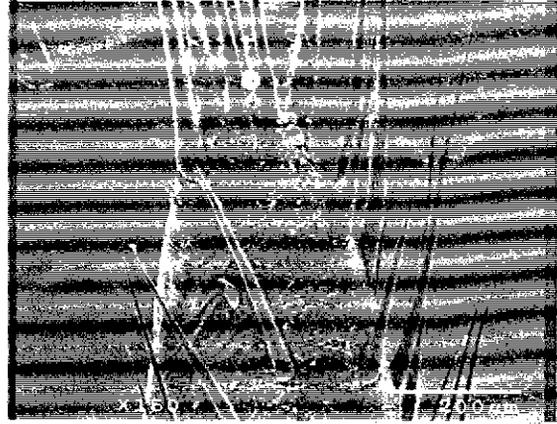


L

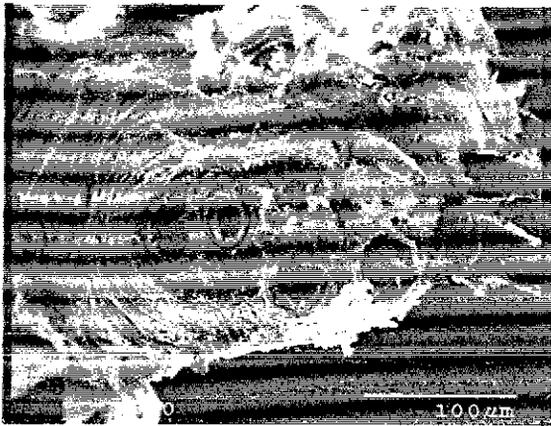
1978 C N
FALDA DE OROON



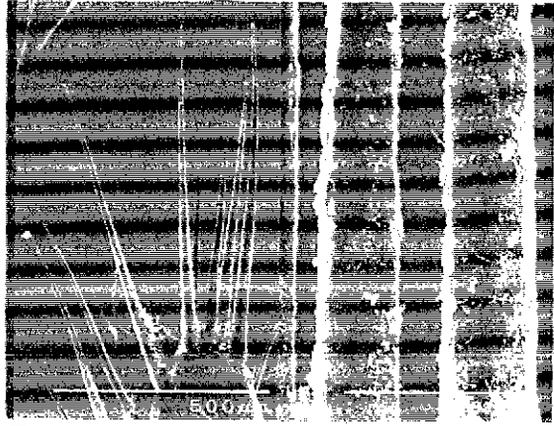
A



B



C



D

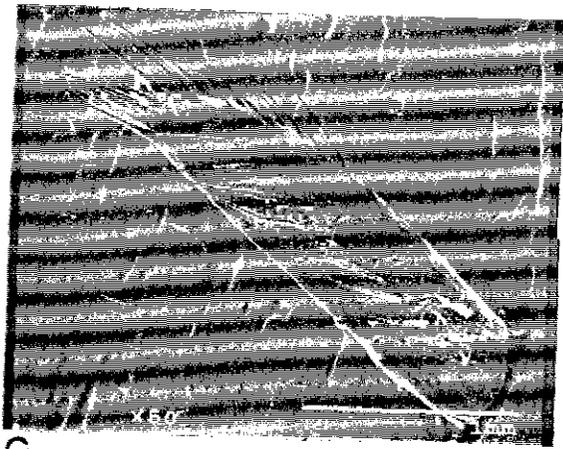


E

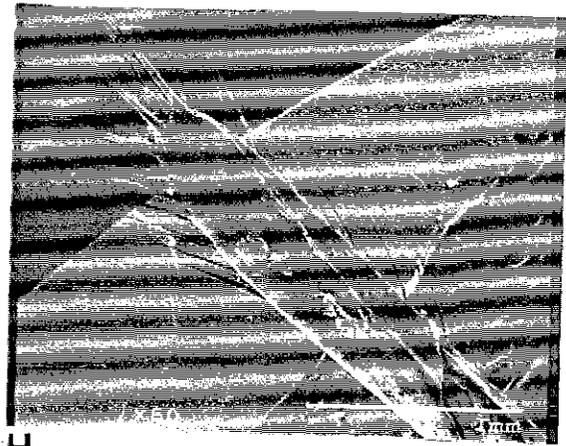


F

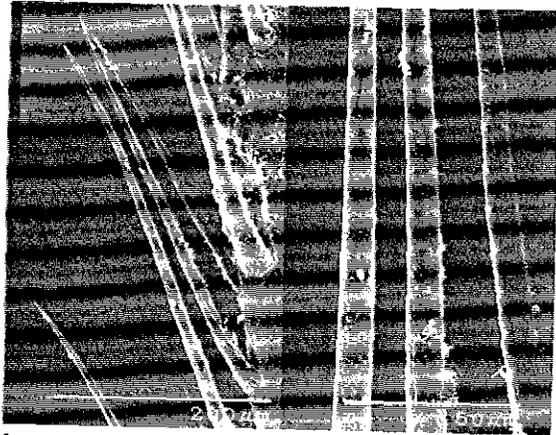
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



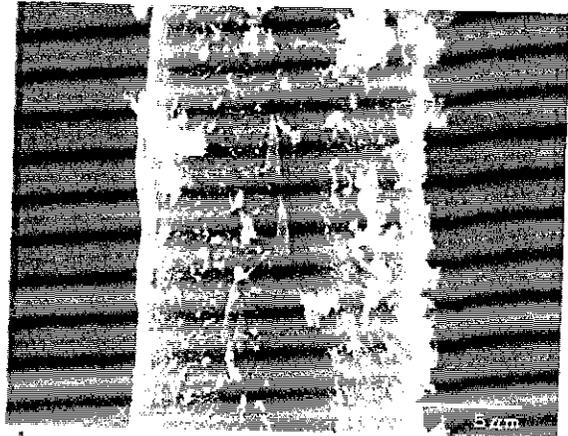
G



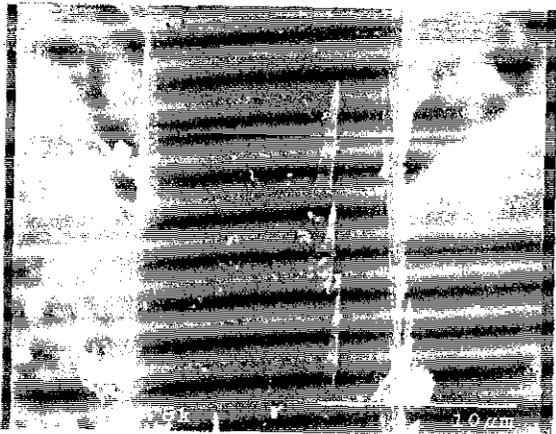
H



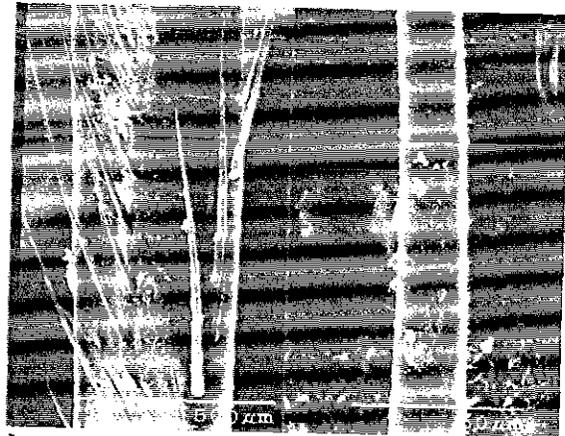
I



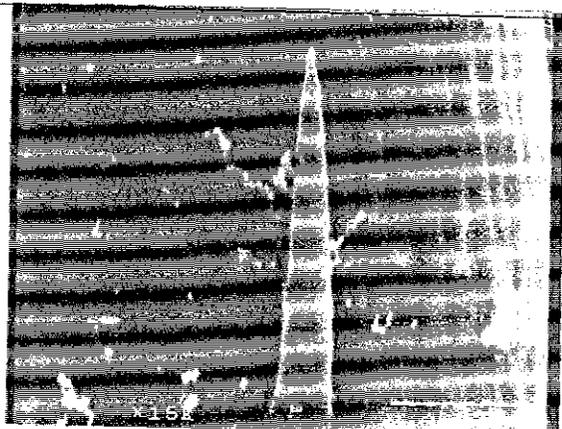
J



K



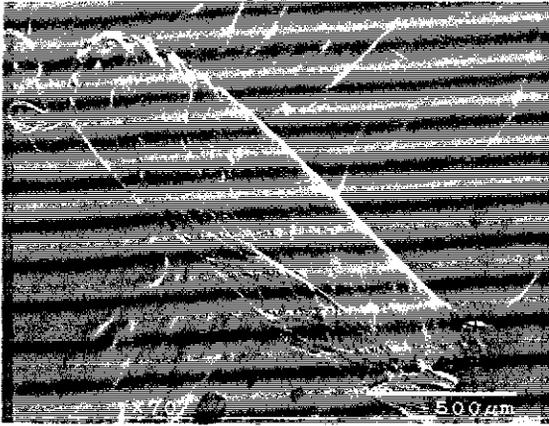
L



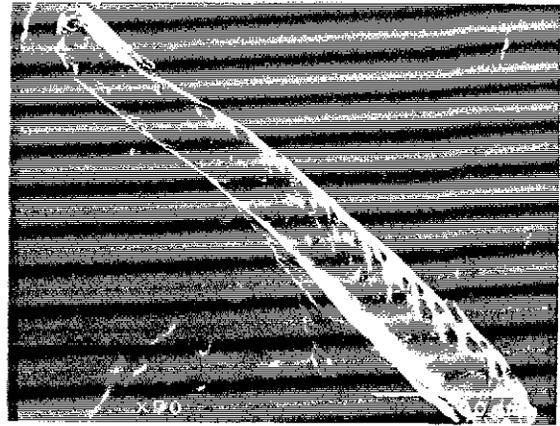
M

THIS COPY
DATE 15 ORIGIN

97



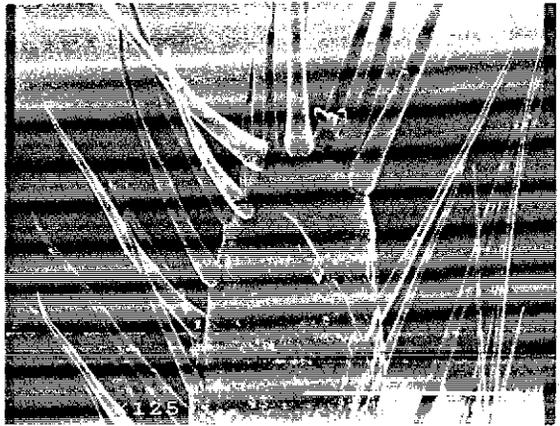
A



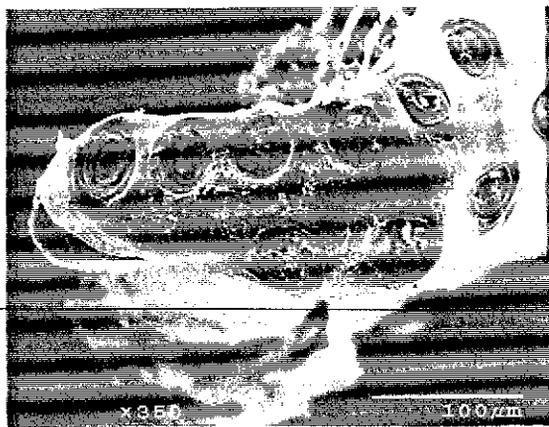
B



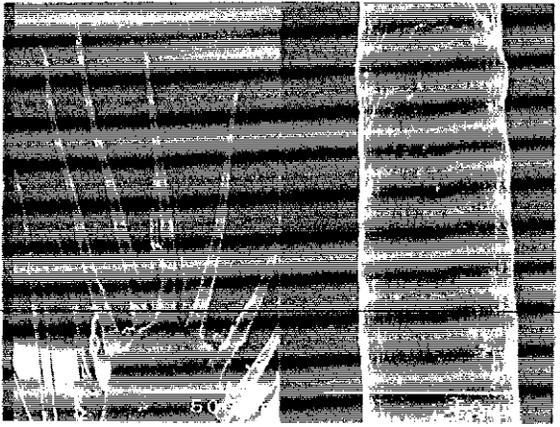
C



D

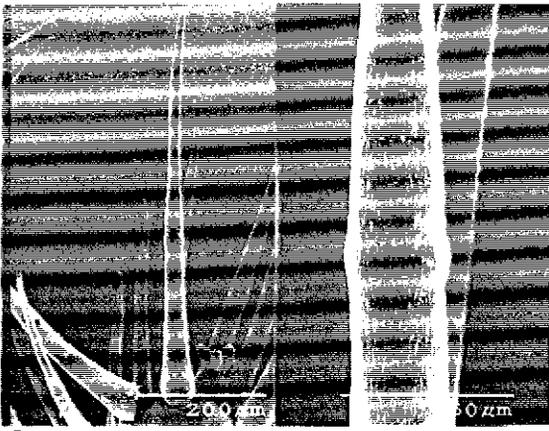


E

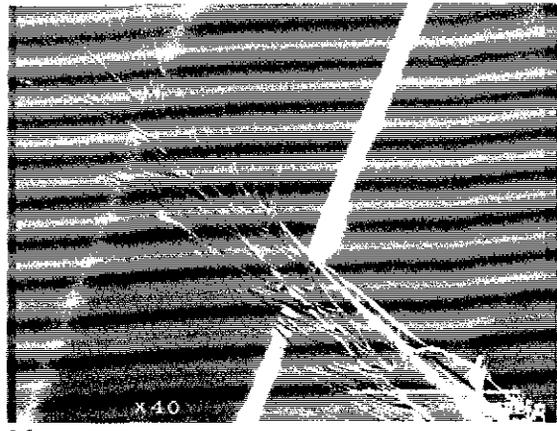


F

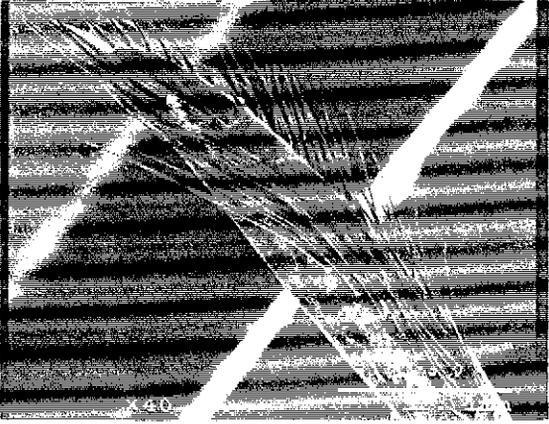
TEXIS C N
FALSA EL CAREN



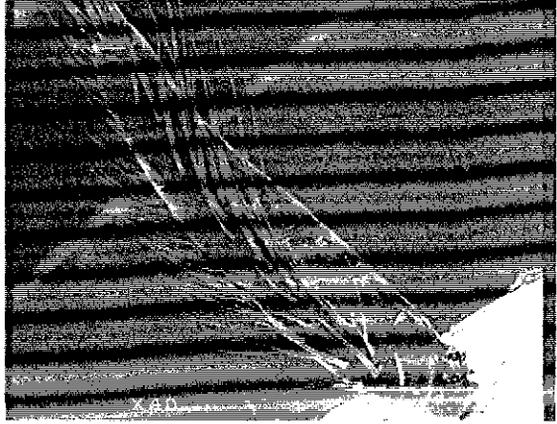
G



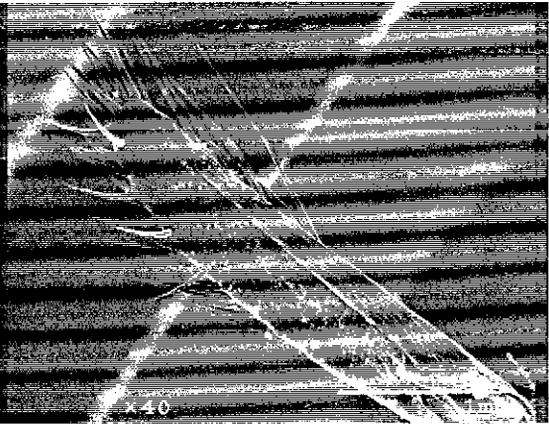
H



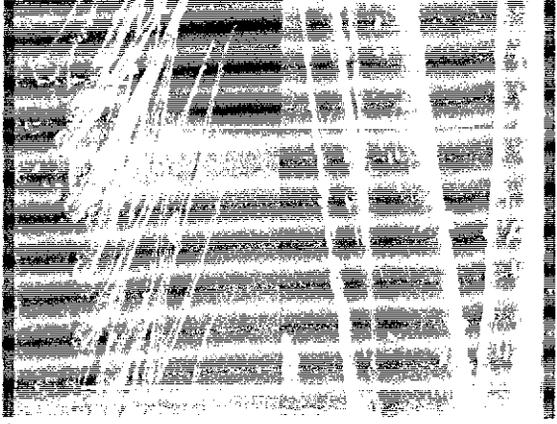
I



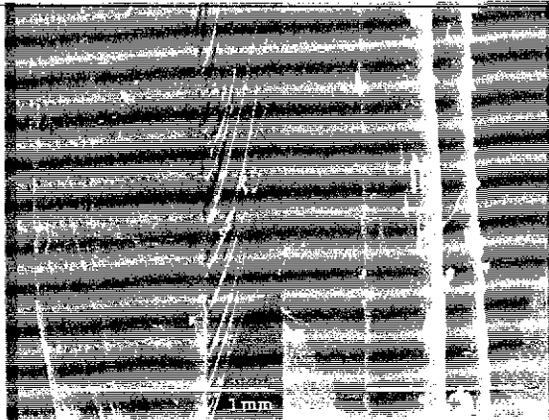
J



K

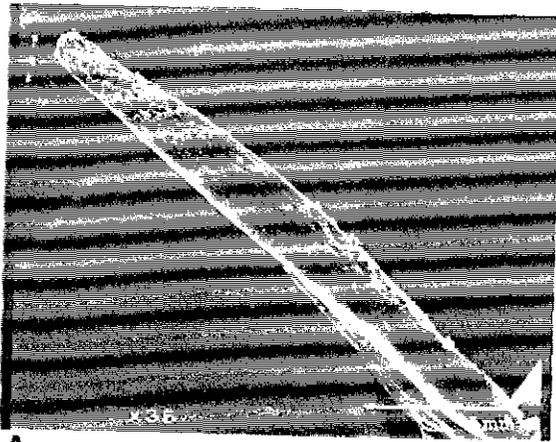


L

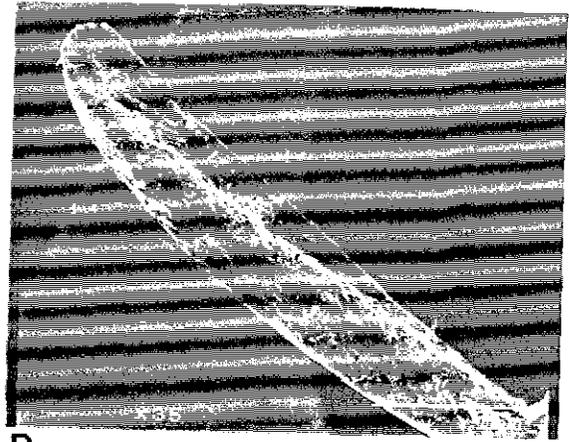


M

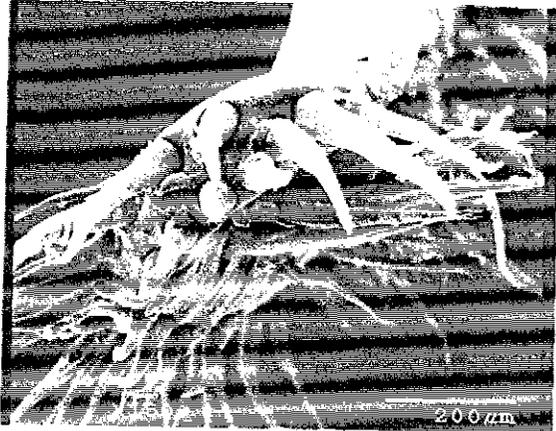
PLANT
MATERIAL



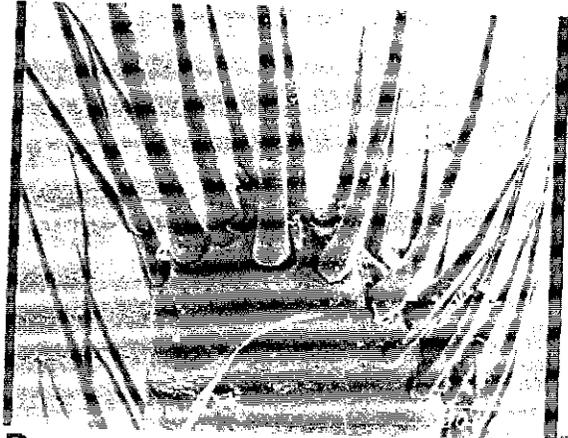
A



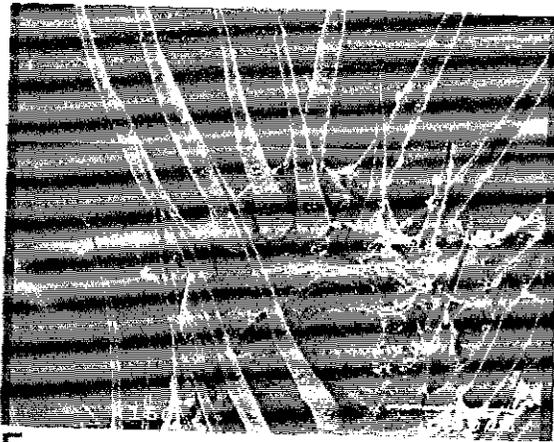
B



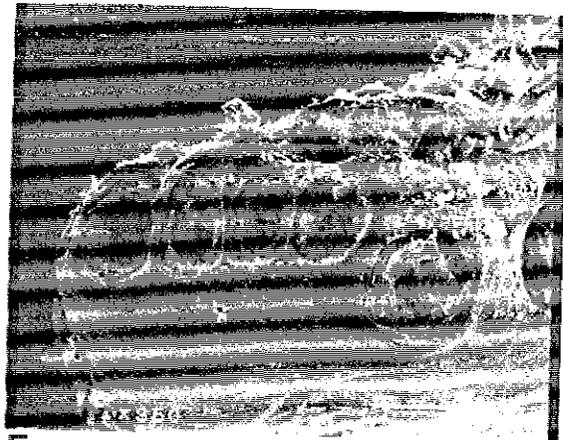
C



D

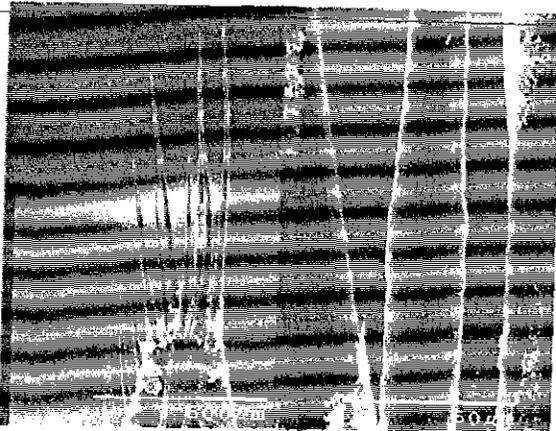


E

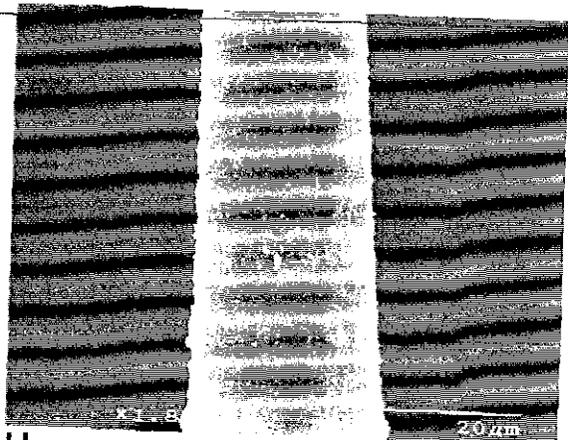


F

1978 GCM
ABBA IS ORGAN.

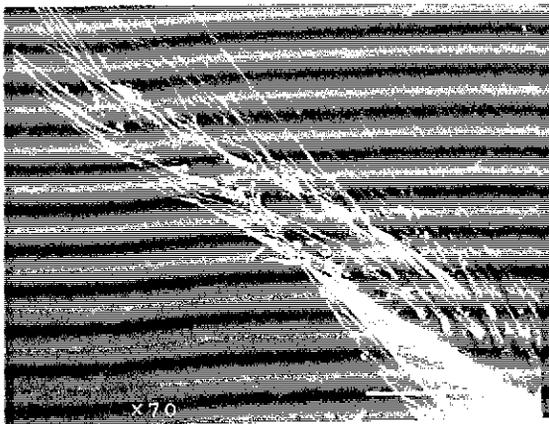


G

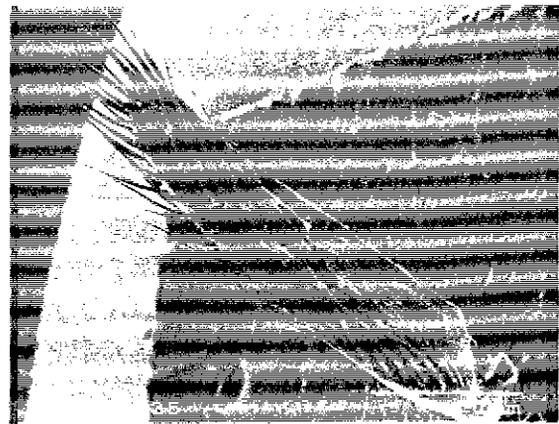


H

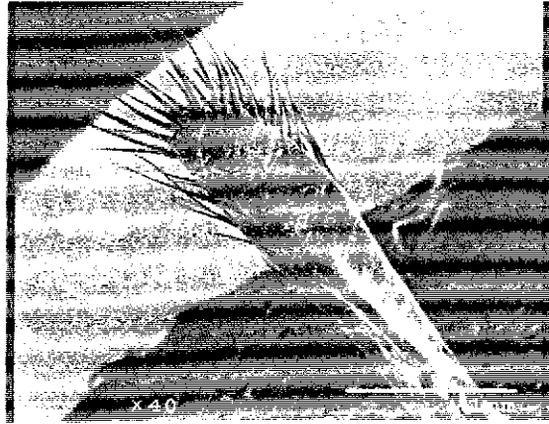
100



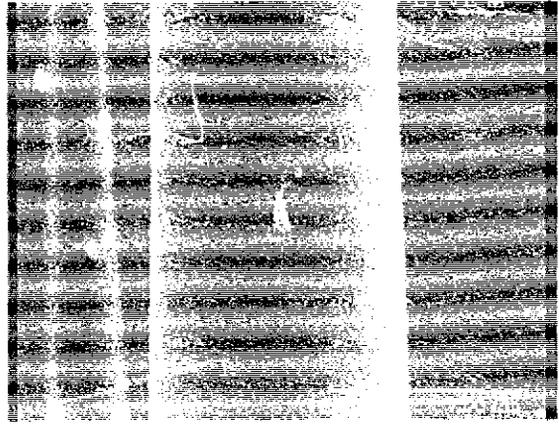
I



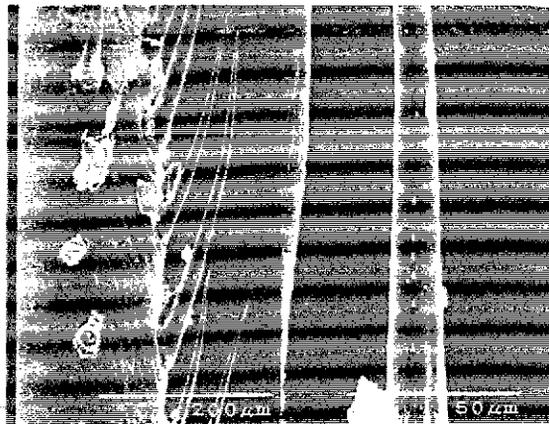
J



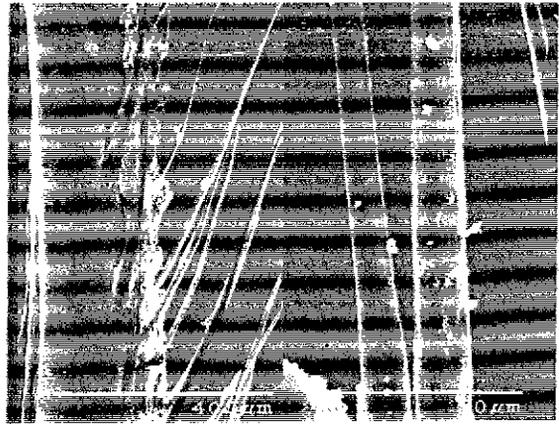
K



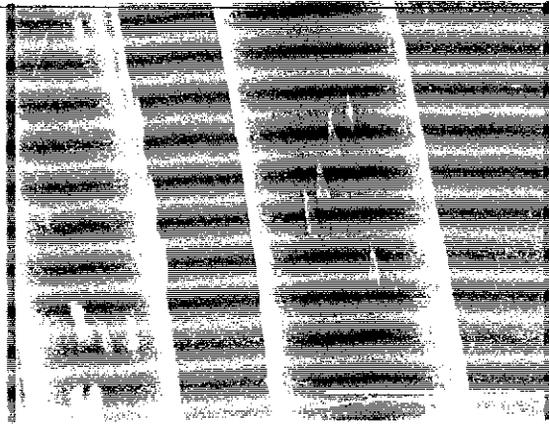
L



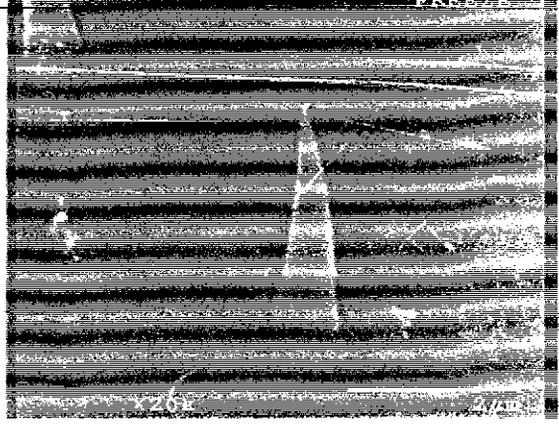
M



N



O



P

77918 02M
MAY 16 09PM
NOV 21 1967

3. Discusión

En el presente trabajo de investigación el estudio del apéndice masculino indica que el número de cerdas apicales y la disposición de éstas es un carácter categórico, constante y especie específico. Las cuatro poblaciones de *M. acanthurus* estudiadas presentaron seis cerdas apicales, excepto para la población de Tabasco en la que un ejemplar presentó siete. En las poblaciones de desarrollo abreviado, *M. tuxtlaense* se caracterizó por presentar un apéndice masculino provisto de cuatro cerdas apicales, *Macrobrachium* sp. 1 presentó tres cerdas apicales y *Macrobrachium* sp. 2 cinco cerdas apicales.

Al ver la ordenación de las poblaciones en un fenograma como el de figura 22, basado en los caracteres de ultraestructura del apéndice masculino, claramente se agrupan y separan en una rama resuelta las poblaciones de *M. acanthurus*, de manera esperada considerando que son poblaciones de una misma especie. Lo contrario sucede con las poblaciones de desarrollo abreviado, cada una se ubica en una rama independiente del fenograma afirmando entonces que hay evidencia a nivel de ultraestructura del apéndice masculino para proponer que las poblaciones de *M. tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2, son especies distintas (Tabla XVI, Fig. 22).

Ahora bien, si se piensa que la función del apéndice masculino y, principalmente su ornamentación espinosa, sirve para la sujeción de la hembra en el momento del apareamiento, es posible esperar que el enganche de las cerdas del apéndice masculino a la hembra sea específico. Así, también se podría explicar la presencia de espinas sólo en la cara externa del apéndice. Villalobos (1967 a), mucho comentó la problemática de la taxonomía de las especies del género *Macrobrachium*, ya que su clasificación está basada completamente en las longitudes, proporciones y características en general, de la palma, artejos del segundo pereópodo y el rostro de cada especie del género. Sin embargo, estos caracteres se confunden con el dimorfismo sexual y con los caracteres aún no definitivos que presentan los juveniles en el proceso de llegar a ser adultos. En esta etapa de transformación, juveniles de algunas especies

podrían confundirse con adultos de otras. Este es el caso de *M. olfersii*, cuya palma es muy característica en un adulto, pero en estado juvenil fácilmente podría confundirse con la palma de *M. michoacanus* y/o *M. hobbsi*. Por ello, si los atributos del apéndice masculino fueran indiscutiblemente especie específicos, serían un buen carácter taxonómico; sin embargo, hay que considerar como inconveniente el que no sea un carácter externo conspicuo. Otra desventaja es el hecho de que el apéndice masculino lo presentan solo los ejemplares machos por lo que no es posible hacer el mismo tipo de comparación entre hembras de distintas poblaciones, aún cuando sería interesante describir el gonoporo femenino y caracterizar algún tipo de especificidad al apéndice masculino en cada especie. Finalmente un tercer inconveniente, aunque de orden logístico y/o de pericia del investigador, se presenta en la definición de los límites de distribución de las poblaciones de cada especie principalmente las de distribución continua, como las once especies de *Macrobrachium* de desarrollo completo, en dónde no son claros los límites geográficos que ocupan las distintas poblaciones de una especie, ¿dónde termina la ubicación geográfica de una y donde comienza la de la otra? Por ejemplo, en la costa Pacífica de México es posible encontrar coexistiendo a seis o siete especies distintas; *M. americanum*, *M. tenellum*, *M. michoacanus*, *M. olfersii*, *M. hobbsi*, *M. acanthochirus* y *M. occidentale*. Esta coexistencia es un serio problema taxonómico en las diferentes etapas de desarrollo, donde todos los organismos están mezclados sin poder definir certeramente a qué especie pertenecen, cosa que no sucede en las especies de desarrollo abreviado ya que, hasta el momento sólo se conocen poblaciones puntuales separadas unas de otras.

Capítulo III

Variación Morfométrica

1. Introducción

Los estudios morfométricos tienen la finalidad básica de comparar, mediante métodos de distribución y análisis estadístico la variación, de la forma entre y dentro de muestras de organismos. Estas muestras de organismos pueden representar localidades geográficas, estadios de desarrollo, efectos genéticos y ambientales, entre otros, y presentar cambios en su forma como resultado del sexo, mutilaciones, tratamientos experimentales o debido al proceso evolutivo.

Para Bookstein (1982), la morfometría es una fusión empírica de la geometría con la biología, ya que con este método se obtiene información biológica y geométrica de los individuos con un propósito comparativo.

En los primeros estudios morfométricos los datos se obtenían mediante reglas graduadas y vernier y se guardaban en esquemas o dibujos de los caracteres observados o, sofisticadamente, en películas fotográficas. Posteriormente aparecieron accesorios como el vernier digital y aquellos que están conectados a una computadora para la inmediata captura de datos. Para la observación de pequeñas estructuras o rasgos se han utilizado reglillas graduadas dentro del ocular microscópico hasta llegar a los sofisticados métodos de microscopía de contraste de fases, o mejor aún, microscopía electrónica de transmisión o de barrido, con la consecuente desventaja de que estas últimas técnicas son costosas y requieren de un tratamiento previo del tejido a analizar. Con el desarrollo de la computadora la adquisición de imágenes y recolección de datos se ha logrado con mayor eficiencia y menor esfuerzo; también con ello ha disminuido el grado de imprecisión y ha favorecido el análisis estadístico de los datos (Molvry *et al.*, 1993). Actualmente, con las técnicas de digitalización de imágenes se superan considerablemente las limitantes del material fotográfico y

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

se logra una rápida y poco costosa captura y almacenamiento de datos, impresiones de alta calidad, rápida reproducción y envío inmediato, mediante correo electrónico, de archivos de información. Una alternativa más es la de adaptar a la computadora una cámara de video y a un paquete de cómputo para procesar dichas imágenes (Rohlf y Marcus, 1993).

También es atribuible a estos últimos años el avance en el análisis estadístico de un grupo de variables mediante análisis multivariados. Este tipo de análisis ha sido una herramienta útil en el análisis de la taxonomía numérica (Eknath et al., 1991) estos métodos son utilizados cuando las especies o poblaciones están tan relacionadas que los caracteres por si mismos no pueden separarlas (Vreven et al ., 1998 y Teugels y Vreven, 1998).

Entre los diferentes análisis multivariados que se pueden realizar se encuentran los métodos que son descriptivos y exploratorios y que no requieren de una hipótesis previa como por ejemplo el análisis de componentes principales. Dentro de los comprobatorios y que requieren de una hipótesis previa se encuentran el análisis discriminante. El análisis de componentes principales no requiere que los organismos sean idénticos a priori, por lo que se puede examinar el patrón de los valores de los organismos en las gráficas para evaluar la premisa inicial de que todos los organismos pertenecen a la misma especie o población (Barbour y Chernoff, 1984) y/o para buscar la relación que liga a los caracteres que determinan la variabilidad morfológica en cada especie o población (Castello, 1983). El análisis de Componentes principales está diseñado para reducir el número de variables que se deben considerar a un número pequeño de componentes (componentes principales) o índices los cuales son combinaciones lineales de las variables originales. el análisis no se considera como valido, por lo que los mejores resultados se obtienen cuando las variables originales están altamente correlacionadas positiva o negativamente (Manly, 1986).

El análisis discriminante en cambio, es utilizado para analizar muestras de diferentes especies o poblaciones que presentan una dispersión común que

les permita localizarse en el modelo "más parsimonioso" capaz de describir efectivamente las diferencias entre los grupos analizados.

En los artrópodos, y en particular los crustáceos, el grupo de atributos, caracteres o variables a comparar corresponden a las medidas de los artejos de los organismos, como: largos, anchos y altos de las estructuras. Sin embargo, es importante tener claras las diferencias entre la talla y la forma de las estructuras, así como la talla describe la magnitud de un carácter, la forma relaciona dos o más caracteres (Somers, 1986). En los análisis de comparación entre especies se debe eliminar el factor alometría que significa disparidad en las tallas de los organismos a analizar lo que se puede dar, por ejemplo, si se trata de ejemplares en distinto estado de desarrollo o madurez en el caso de los crustáceos juveniles y adultos. Para eliminar tal efecto se han propuesto varios métodos de transformación de datos como de ajuste de datos con relación a una talla común, usar proporciones y extraer el primer componente en el análisis de componentes principales (Rohlf y Marcus, 1993; Somers, 1986).

Finalmente, el resultado de un grupo de datos morfométricos es una representación abstracta de datos originales, como un valor asignado para patrones de distancia o por coordenadas cartesianas o vectores como se usa actualmente (Rohlf y Marcus, 1993).

En este trabajo de investigación se propone hacer una comparación tanto morfométrica como morfológica de ejemplares de las tres poblaciones de langostinos del género *Macrobrachium* con desarrollo abreviado. Los datos para estos análisis serán obtenidos mediante un método no convencional en la taxonomía de los crustáceos. Empezaremos por proponer una técnica de filmación de imágenes para este grupo de palemónidos. La digitalización y captura de datos se realizará mediante el programa Morphosys (ver 1.26). El análisis estadístico de los datos se realizará utilizando un test multivariado de componentes principales y un discriminante canónico. Para el análisis comparativo de la forma consenso del caparazón y segundo pereiópodo mayor se utilizará el programa TPS Relative Warps.

Objetivos:

1. Obtener el protocolo de una técnica apropiada para la filmación de estructuras taxonómicas comparables en langostinos del género *Macrobrachium*.
 2. Evaluar el nivel de precisión del sistema de captura y digitalización de imágenes utilizados en este estudio.
 3. Comparar, mediante un análisis multivariado (factores principales y discriminante canónico), la morfometría de distintas estructuras en langostinos de desarrollo abreviado.
 4. Comparar la forma consenso del caparazón y la palma (sin dedo móvil) que caracteriza a cada una de las tres poblaciones de desarrollo abreviado en estudio.
2. Materiales y método

Se trabajó con los mismos ejemplares de *Macrobrachium tuxtleense*, *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2, utilizados en el estudio electroforético. Las estructuras utilizadas para esta parte del estudio fueron: exoesqueleto del cefalotórax (caparazón) y el segundo pereiópodo izquierdo, las cuales se preservaron en alcohol al 70% para los análisis de tamaño y forma.

2.1 Análisis de tamaño

Las dimensiones de los artejos se obtuvieron mediante la digitalización de imágenes de video del caparazón y del segundo pereiópodo mayor izquierdo. La primera parte de esta técnica consistió en realizar grabaciones laterales del caparazón así como dorsales y laterales del segundo pereiópodo izquierdo de cada ejemplar. Para ello se montó un sistema de soporte para una cámara de video digital, un sistema de iluminación y una base porta muestras. Dentro de cada toma se incluyó una etiqueta de identificación y una reglilla graduada que

permitted to scale each image independently of zooming and as a reference to calibrate and register the measurements in millimeters, since the program expresses the spatial measurements in pixels. The second part consisted in digitalizing in each image, different points or "Landmarks" sensu Bookstein (1996), using the program MorphoSys, ver.1.26 (Meacham and Duncan, 1989). In the lateral views of the carapace 12 points (Fig. 23 a), in the lateral views of the second largest pereopod were located 20 points (Fig. 23 b) and 27 points in the dorsal view of this appendage (Fig. 23 c). Finally, a simple command program was elaborated that orders to read the distance between the points that are estimated convenient for the study, which is equivalent to having the lengths, heights and widths of the structures.

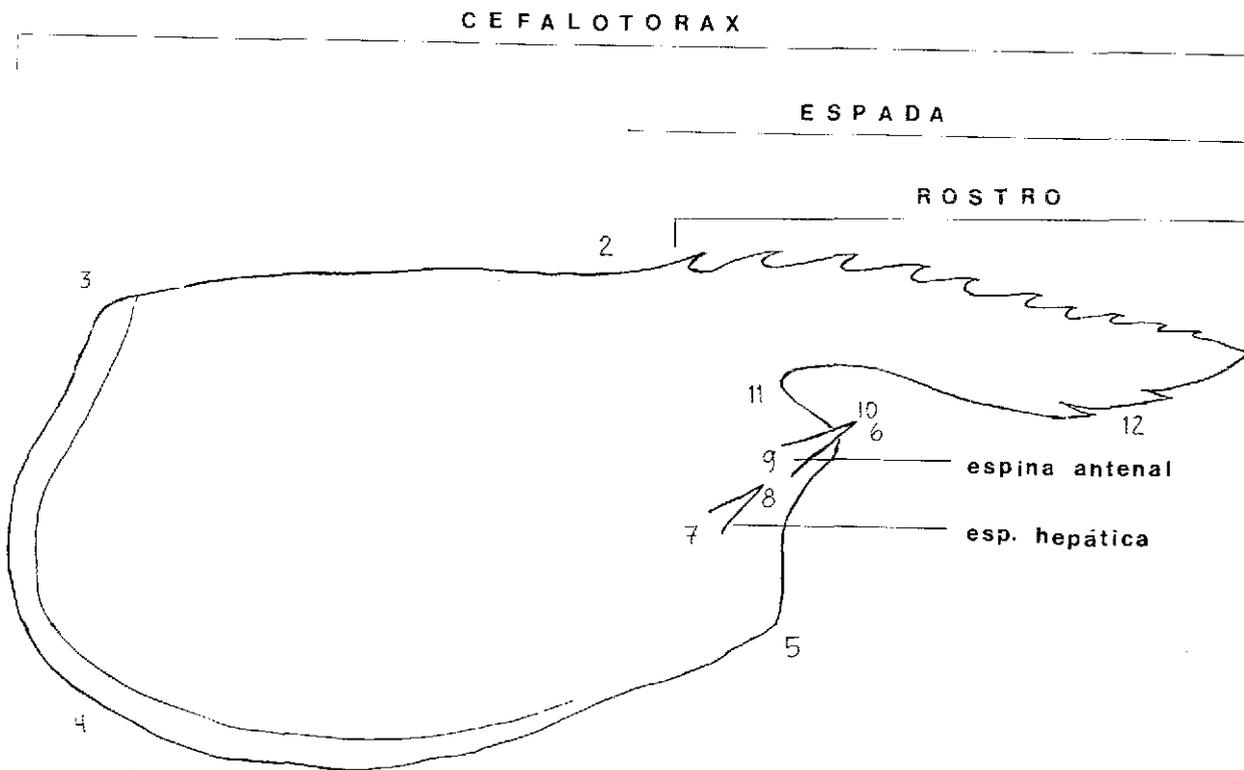
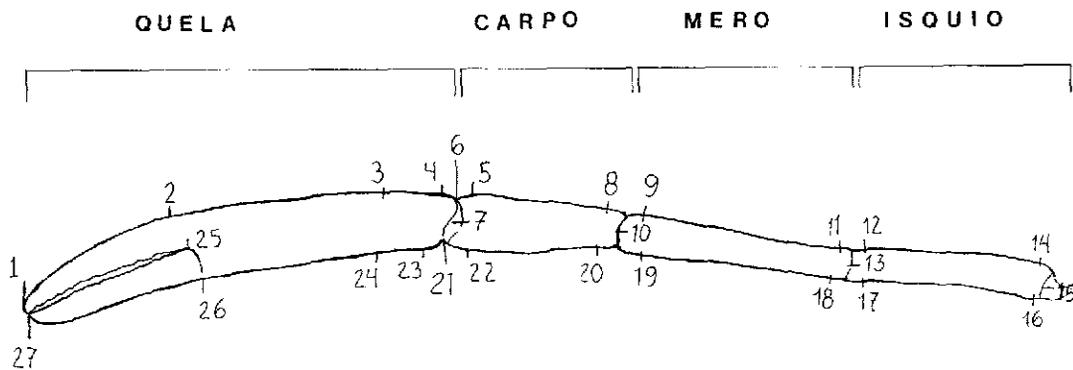
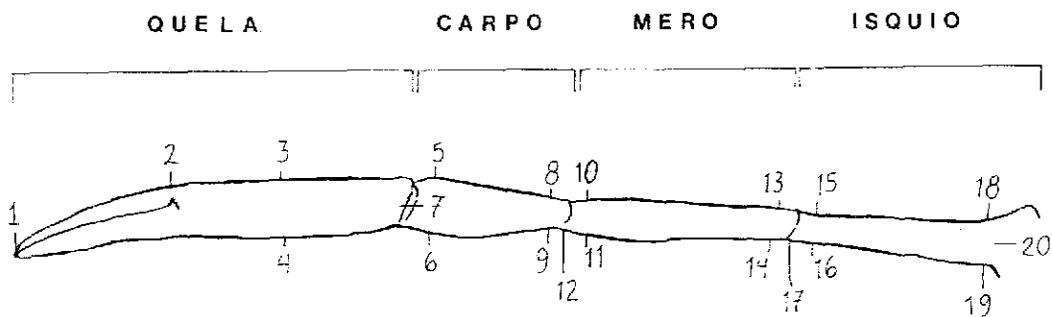


Fig. 23a. Esquema lateral del caparazón de un langostino, indicando los puntos digitalizados a partir de los cuales se hicieron las mediciones. (1-2) Longitud de la espada; (2-3) Longitud del cuerpo; (1-3) Longitud total del cefalotorax; (7-8) Longitud de la espina hepática; (9-10) Longitud de la espina antenal; (6) margen suborbital; (11) centro de la órbita (12) punta de la primera espina del del margen inferior del rostro.

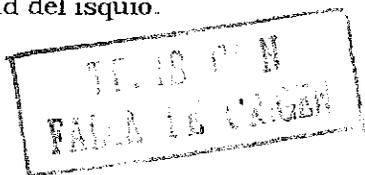
TEXIS CON
VALIA EL DE GEN



23b. Esquema dorsal del segundo pereiópodo de un langostino. Indicando los puntos digitalizados, a partir de los cuales se hicieron las mediciones de los artejos. (1-15) Longitud total del pereiópodo; (1-7) Longitud de la palma; (7-10) Longitud del carpo; (10-13) Longitud del mero; (13-15) Longitud del isquio; (26-27) Longitud del dedo móvil; (1-25) Longitud del dedo fijo; (25-15) Longitud del pereiópodo sin dedos; (3-24) Alto mayor de la palma; (4-23) Alto posterior de la palma; (5-22) alto anterior del carpo; (8-20) Alto posterior del carpo; (9-19) Alto anterior del mero; (11-18) Alto posterior del mero; (12-17) Alto anterior del isquio; (14-16) Alto posterior del isquio.



23c. Esquema lateral del segundo pereiópodo de un langostino. Indicando los puntos digitalizados, a partir de los cuales se hicieron las mediciones de los artejos. (1-20) Longitud total del pereiópodo; (1-2) Longitud del dedo fijo; (1-7) Longitud de la quela; (2-7) Longitud de la palma; (3-4) Ancho de la palma; (5-6) Ancho anterior del carpo; (8-9) Ancho posterior del carpo; (10-11) Ancho anterior del mero; (13-14) Ancho posterior del mero; (15-16) Ancho anterior del isquio; (18-19) Ancho posterior del isquio; (7-12) Longitud del carpo; (12-17) Longitud del mero; (17-20) Longitud del isquio.



2.2 Calibración del error de medición

La variación que pueda existir en las medidas morfométricas tomadas sobre el mismo carácter se denomina error de medición (EM). El que puede deberse a la falta de puntos bien definidos al digitalizar las imágenes, flexibilidad de las estructuras a medir, pericia del operador, variación entre observadores, precisión del aparato de medición, continuidad con que se tomen las mediciones y tamaño de las estructuras a medir con respecto al método de medición, entre otros (Yezerinac *et al.*, 1992). Por ello, en los análisis morfométricos se ha utilizado el concepto de error de medición como la variación que aporta el sistema de medición a un carácter particular. El error de medición puede determinarse por la medición repetida de un carácter y se expresa como porcentaje. Este porcentaje es el valor de la variación de la muestra asociada a la imprecisión de la medida (Bailey y Byrnes, 1990)

$$\%EM = \frac{s^2 \text{ dentro}}{s^2 \text{ entre} + s^2 \text{ dentro}} \times 100$$

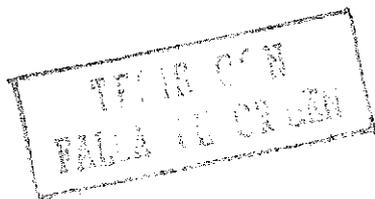
Donde:

%EM = Porcentaje de error de medición

s² entre = Variación entre individuos (n=10)

s² dentro = Varianza dentro de la población (la varianza que aporta el programa de medición que resulta de medir varias veces un mismo carácter).

Se tomaron diez organismos al azar, de una misma población, y se midieron diez veces los 37 caracteres morfológicos a analizar, simultánea e independientemente, para calcular el error de medición.



2.3 Análisis estadístico de los datos

a. Estadísticos descriptivos

Se calculó la media aritmética (\bar{x}) de los treinta y siete (37) caracteres y doce (12) proporciones para cada una de las tres poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado a comparar y como medida de dispersión de los valores respecto a la media se calculó la desviación standard (DS). El coeficiente de variación (CV), es un indicador de la homogeneidad de la muestra, usado cuando se quiere, comparar muestras de la misma especie pero de distintas localidades o cuando se desea investigar la variación de distintos atributos en la misma muestra (Lewontin, 1966), se utilizó para comparar la variación de los atributos por sitio y por sexo dentro y entre las poblaciones.

b. Análisis de varianza

Este análisis permite explorar las diferencias significativas de los caracteres entre poblaciones (por sitio) y dentro de las poblaciones (por sexo) y el efecto en conjunto sitio por sexo.

c. Análisis de variación entre especies

Componentes principales: este tipo de análisis multivariado permite conocer qué parte de la varianza total se atribuye a cada componente del análisis. Para el análisis de componentes principales se determinó el número de componentes que eficientemente representa la información contenida en las variables por medio de la elaboración de una matriz de correlación lineal compuesta por cada par de variables (análisis tipo R), utilizando el coeficiente de correlación de Pearson. Posteriormente se encontraron los vectores característicos de la matriz de correlación que generan los ejes o componentes principales y las raíces características que representan la longitud de los ejes.

Análisis discriminante: es un test comprobatorio, utilizado para analizar muestras de diferentes especies o poblaciones que permite diferenciar efectivamente entre los grupos comparados. El análisis discriminante, se utilizó entre especies por medio del cálculo de distancias generalizadas, ya que estas eliminan los efectos de correlación entre los caracteres utilizados y explican las diferencias entre cada grupo con su centroide, es decir su dispersión (Libosvarky y Kux, 1982). Para estos análisis se utilizó el programa de cómputo STATISTICA version 4.5 (Starsoft Inc. 1998).

d. Análisis de agrupamiento

Queriendo comparar la distribución de los ejemplares de cada población mediante su caracterización morfométrica total se hizo un fenograma estilo UPGMA, utilizando el programa de cómputo STATISTICA version 4.5 (Starsoft Inc. 1998). Y mediante una ANOVA se hizo una comparación de medias mediante el test de Tukey (HSD) for unequal N (Spjotvoll/stoline test) se determinaron los estados de carácter de los 37 caracteres o atributos morfométricos medidos. Con estos resultados se elaboró una matriz de presencia / ausencia de caracteres con la que se hizo un análisis de parsimonia con el programa Paup (Swofford, 1990), la confianza estadística se estimó por el porcentaje de veces que la hipótesis es sustentada entre el número de réplicas, bootstrap = 1000.

2.4. Análisis de forma

Para caracterizar la forma del caparazón y la quela sin dedo móvil, se utilizaron los mismos puntos marcados en el análisis de tamaño. La variación en la forma del caparazón y de la quela se estimaron utilizando el Programa TPS (Thin Plate Splines) Relative Warps versión 1.9 (Rohlf, 1999), que se basa en las ideas de Thompson (1917).

Este programa funciona creando una retícula virtual muy delgada sobre la que se ubica la posición de los diferentes puntos de los objetos a comparar. Para ello es necesario obtener primero una imagen consenso o promedio, que se obtiene mediante la superposición de pares de imágenes, comparando la imagen de cada individuo de la muestra contra el primero, obteniendo una imagen con la posición promedio en un plano cartesiano de los diferentes puntos (Rohlf y Slike, 1990). Esta imagen promedio, entonces, es considerada una imagen no deformada, por lo tanto la retícula sobre la que está montada conserva su ortogonalidad en todos sus ángulos.

Debido a que las imágenes originales fueron filmadas en posiciones y escalas distintas, las coordenadas de las diferentes imágenes tuvieron que ser escaladas y rotadas para que siempre guardaran la misma orientación y proporción.

3. Resultados

3.1 Obtención de imágenes

El primer resultado obtenido fue la estandarización de un modelo para la captura de imágenes. Primeramente, se estableció un protocolo de filmación de las estructuras (tanto laterales como dorsales). La filmación de las estructuras se realizó utilizando: un soporte universal que portaba una cámara de vídeo de 8 milímetros (fija en una misma posición) lo único que varió fue la distancia focal entre los 47 y 86 cm, dependiendo del tamaño de la estructura. A ambos lados del soporte se ubicó un par de lámparas para iluminación, a no más de 20 cm del plano focal. El plano focal o base porta muestra fue un transiluminador de diapositivas, que permitió iluminar las estructuras desde abajo para obtener imágenes claras libres de sombras, contrastes o artefactos de distorsión. Sobre el transiluminador se colocó una caja de Petri que portaba la estructura a filmar, rodeada de agua para evitar la deshidratación, cambio de forma y/o ruptura de la estructura, por la temperatura emitida por las lámparas. Junto a la muestra se colocó una reglilla graduada de papel milimétrico, con el propósito

de estandarizar las imágenes filmadas independientemente del aumento utilizado. Cada filmación duró 13 segundos y se obtuvieron en total 159 imágenes: 53 del exoesqueleto del cefalotórax en posición lateral, 53 del segundo pereiópodo izquierdo en posición lateral y 53 del segundo pereiópodo izquierdo en posición dorsal.

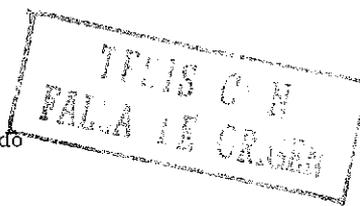
Posteriormente, se capturaron, digitalizaron y midieron las imágenes filmadas, mediante la utilización de una computadora con el programa MorphoSys versión 1.26 (Meacham y Duncan, 1989), un monitor de televisión y una videograbadora con reproductor de imágenes. El resultado final es una base de datos en una matriz (53 x 39) de todos los caracteres morfométricos registrados, en milímetros.

3.2 Error de medición

Al calcular el error de medición asociado a cada caracter morfométrico se obtuvieron valores que fluctuaron entre 1.12×10^{-3} y 0.40% (Tabla XVII). Con los valores anteriores se puede considerar que el método de filmación de imágenes y el programa utilizado son de alta precisión y confiabilidad.

Tabla XVII Porcentaje de error de medición (EM) asociado a cada carácter morfométrico. Se señalan caracteres y proporciones con su respectiva abreviación y número de variable.

variabl	Abreviación	Carácter	% Error Medición
v5	Lt	Logitud total del ejemplar	
v6	Labd	Longitud del abdomen	
v7	Espada	Largo del margen preorbital dentado superior	3.6 x 10 ⁻³
v8	Cucrpo	Cefalotorax sin espada	0.067
v9	Cefaloto	Largo total del cefalotorax	0.015
v10	Esp - Hepa	Largo de la espina hepática	0.19
v11	Esp - Antc	Largo de la espina antenal	0.33
v12	Rostro	Largo margen postorbital dentado superior	7.3 x10 ⁻³
v13	Posc - 1- EA	Distancia, desde la base de la espina antenal al borde suborbital	0.29
v14	Posc - 2 -EA	Distancia, desde la base de la espina antenal al centro de la órbita	0.33
v15	Posc - 1- EH	Distancia, desde la base de la espina hepática al borde suborbital	0.078
v16	Posc -2 - EH	Distancia, desde la base de la espina hepática al centro de la órbita	0.091
v17	Dis - EA - EH	Distancia entre la base de la espina hepática y antenal	0.39
v18	L - dfjoe	Largo, externo, del dedo fijo	0.039
v19	A - palma	Ancho de la palma	0.075
v20	A - acarp	Ancho anterior del carpo	0.118
v21	Aa - pcarp	Ancho posterior del carpo	0.08
v22	L - carp	Largo del carpo	1.012 x 10 ⁻³
v23	A - a - mero	Ancho anterior del mero	0.1
v24	A - p - mero	Ancho posterior del mero	0.12
v25	A - aisqu	Ancho anterior del isquión	0.1
v26	L - mero	Largo del mero	4.2 x 10 ⁻³
v27	A - pisqu	Ancho posterior del isquión	0.073
v28	L - pisqu	Largo del isquión	0.37
v29	L - isqui	Largo del dedo móvil	1.73 x 10 ⁻³
v30	L - dfjoi	Largo, interno, del dedo fijo	0.01
v31	L - totpat	Largo total del 2° pereiopodo	6.3 x 10 ⁻³
v32	L - palma	Largo de la palma	3.6 x 10 ⁻³
v33	L - patasi	Largo del 2° pereiopodo sin dedo	9.01 x 10 ⁻³
v34	Al - palma	Alto de la palma	0.35
v35	Al - acarpo	Alto anterior del carpo	0.3
v36	Al - pcarpo	Alto posterior del carpo	0.19
v37	Al - a - mero	Alto anterior del mero	0.19
v38	Al - p mero	Alto posterior del mero	0.14
v39	Al - a - isqui	Alto anterior del isquión	0.18
v40	Al - p - isqui	Alto posterior del isquión	0.1
v41	L - quela	Largo de la quela	0.012
v42		Relación rostro / cefalotorax	
v43		Relación espada / cefalotoraxrostro / cefalotorax	
v44		Relación cefalotorax / longitud total del pereiopodo	
v45		Relación longitud del carpo / longitud total pereiopodo	
v46		Relación longitud del mero / Longitud total del pereiopodo	
v47		Relación longitud total del isquio / longitud total del pereiopodo	
v48		Relación longitud de la quela / longitud total del pereiopodo	
v49		Relación ancho de la quela / longitud de la quela	
v50		Relación alto de la quela / ancho de la quela	
v51		Relación longitud del dedo móvil / longitud de la quela	
v52		Longitud interna del dedo fijo / longitud de la quela	
v53		Longitud externa del dedo fijo / longitud de la quela	



3.3 Análisis estadístico

a. Estadísticos descriptivos

Los ejemplares de *M. tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2, utilizados en este estudio fueron adultos que no presentaron mayor variación en su longitud total, evitando con ello el posible efecto de la talla o alometría. Aún así se hicieron doce (12) proporciones a partir de las medidas de los artejos, que se esperaba solucionara dicho efecto si lo hubiese.

El número muestral, la media, varianza el rango y el coeficiente de variación para la longitud total de los ejemplares, por sexo, para las tres poblaciones se muestran en la tabla XVIII. El promedio para la longitud total fluctúa en torno a los 33 mm. para los ejemplares de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1; la varianza en torno a estos promedios es similar en todos los casos. Los ejemplares de la población de *Macrobrachium* sp. 2 son de menor talla y la varianza en torno a ésta es considerablemente menor que la que presentan las otras poblaciones; esto probablemente se observa de esta manera porque el número muestral para esta población es muy pequeño. Los valores de los estadísticos descriptivos, media, desviación standard y coeficiente de variación para cada carácter, por sexo, en cada localidad, se presentan en las tablas XIX, XX, y XXI respectivamente. El coeficiente de variación es una medida de variación relativa y expresa la desviación standard como un porcentaje de la media, en ambos sexos para todas las poblaciones; este porcentaje resultó ser alto en las mediciones relacionadas con el isquio, excepto para las hembras de *Macrobrachium* sp. 2, en donde el más alto coeficiente de variación lo presentó la longitud de la espina hepática.

Tabla XVIII. Estadísticos descriptivos para la longitud total en (mm), de machos y hembras de las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado, utilizadas en este estudio.

		n	media	varianza	rango	Coef. Variación
<i>M. Tuxtlaense</i> (Catemaco)	Machos	16	34.90	12.14	28.00 - 41.00	9.982
	Hembras	10	33.75	12.95	30.00 - 41.00	10.666
<i>Macrobrachium</i> sp.1 (Santiaguillo)	Machos	9	32.50	12.65	28.50 - 40.00	10.926
	Hembras	8	33.31	16.70	26.50 - 39.00	12.271
<i>Macrobrachium</i> sp.2 (San Antonio)	Machos	5	29.80	1.70	29.00 - 32.00	9.405
	Hembras	5	31.00	8.50	27.00 - 34.00	4.375

Tabla XIX Estadísticos descriptivos para 37 caracteres, medidos (mm) para machos y hembras de la población de *Macrobrachium tuxtlaense* de Catemaco.

	Machos			Hembras		
	Mean	Std.Dev.	Cv	Mean	Std.Dev.	Cv
Longitud total	34.906	3.484	9.982	33.750	3.600	10.666
Longitud abdomen	19.113	2.948	15.424	19.536	2.213	11.328
Espada	8.671	0.965	11.130	7.648	0.930	12.163
Cuerpo	7.161	0.921	12.857	6.601	0.868	13.147
Cefaloto	15.793	1.744	11.046	14.214	1.583	11.140
Esp - Hepa	0.721	0.105	14.626	0.723	0.058	7.973
Esp - Ante	0.647	0.200	30.954	0.636	0.070	10.996
Rostro	6.587	0.753	11.425	5.831	0.611	10.477
Posc - 1- EA	0.795	0.147	18.468	0.712	0.070	9.815
Posc - 2 -EA	1.325	0.174	13.146	1.181	0.131	11.112
Posc - 1- EH	2.623	0.350	13.324	2.259	0.215	9.520
Posc -2 - EH	2.704	0.327	12.081	2.303	0.286	12.438
Dis - EA - EH	1.839	0.303	16.471	1.552	0.194	12.522
L - dfijoe	3.124	0.708	22.655	2.869	0.441	15.359
A - palma	1.377	0.406	29.490	1.155	0.225	19.507
A - acarp	1.220	0.305	25.057	1.057	0.239	22.621
Aa - pcarp	0.737	0.182	24.720	0.635	0.085	13.407
L - carp	4.038	0.640	15.850	3.914	0.701	17.901
A - a - mero	0.924	0.249	26.918	0.682	0.173	25.418
A - p - mero	0.739	0.196	26.555	0.620	0.133	21.528
A - isqu	0.711	0.216	30.383	0.623	0.137	22.013
L - mero	4.327	0.843	19.487	3.812	0.795	20.847
A - pisqu	0.612	0.233	38.081	0.508	0.121	23.876
L - pisqu	3.455	0.619	17.923	3.281	0.423	12.905
L - isqui	3.684	0.840	22.807	3.036	0.517	17.045
L - dfijoi	3.300	0.693	21.006	2.898	0.436	15.037
L - totpat	19.733	3.835	19.434	17.728	2.954	16.665
L - palma	4.814	1.417	29.438	3.994	0.984	24.646
L - patasi	16.592	3.215	19.376	14.956	2.639	17.643
Al - palma	1.193	0.351	29.376	1.018	0.191	18.761
Al - acarpo	1.239	0.326	26.308	1.072	0.202	18.812
Al - pcarpo	0.725	0.206	28.372	0.714	0.154	21.628
Al - a - mero	0.947	0.258	27.275	0.824	0.172	20.819
Al - p mero	0.850	0.208	24.475	0.706	0.233	33.054
Al - a - isqui	0.814	0.172	21.145	0.690	0.176	25.549
Al - p - isqui	0.736	0.216	29.323	0.657	0.122	18.512
L - quela	8.380	2.255	26.909	6.616	1.335	20.179

Tabla XX. Estadísticos descriptivos para 37 caracteres, medidos (mm) para machos y hembras de la población de *Macrobrachium* sp. 1 de Santiaguillo.

	Machos			Hembras		
	Mean	Std.Dev.	Cv	Mean	Std.Dev.	Cv
Longitud total	32.556	3.557	10.926	33.313	4.088	12.271
Longitud abdomen	19.846	2.298	11.579	19.582	2.762	14.104
Espada	6.687	1.028	15.376	6.870	0.639	9.302
Cuerpo	6.013	0.872	14.504	6.883	0.943	13.706
Cefaloto	12.693	1.831	14.422	13.730	1.434	10.446
Esp - Hepa	0.603	0.084	13.929	0.606	0.080	13.258
Esp - Ante	0.629	0.134	21.348	0.704	0.129	18.259
Rostro	5.169	0.673	13.020	5.338	0.503	9.431
Posc - 1 - EA	0.710	0.123	17.368	0.844	0.180	21.357
Posc - 2 - EA	1.210	0.239	19.781	1.343	0.239	17.788
Posc - 1 - EH	2.149	0.385	17.931	2.221	0.246	11.065
Posc - 2 - EH	2.243	0.446	19.884	2.428	0.322	13.251
Dis - EA - EH	1.443	0.277	19.172	1.389	0.194	13.945
L - dfijoe	2.497	0.249	9.987	2.645	0.339	12.830
A - palma	1.073	0.149	13.881	1.174	0.200	17.070
A - acarp	0.961	0.125	13.016	1.080	0.161	14.902
Aa - pcarp	0.497	0.107	21.611	0.566	0.089	15.800
L - carp	3.474	0.146	4.214	3.749	0.421	11.243
A - a - mero	0.693	0.151	21.821	0.755	0.135	17.908
A - p - mero	0.555	0.130	23.481	0.640	0.141	22.080
A - isqui	0.521	0.138	26.515	0.558	0.119	21.320
L - mero	3.634	0.318	8.744	3.842	0.542	14.107
A - pisqu	0.530	0.153	28.826	0.584	0.125	21.382
L - pisqu	2.729	0.609	22.308	3.106	0.613	19.741
L - isqui	2.709	0.308	11.354	2.908	0.299	10.267
L - dfijoi	2.570	0.252	9.808	2.713	0.290	10.694
L - totpat	15.805	1.133	7.170	16.879	2.107	12.484
L - palma	3.546	0.478	13.467	3.691	0.594	16.090
L - patasi	13.330	0.936	7.018	14.263	1.817	12.739
Al - palma	0.914	0.168	18.338	1.016	0.216	21.309
Al - acarp	0.924	0.170	18.436	1.016	0.192	18.890
Al - pcarp	0.543	0.133	24.464	0.608	0.109	17.876
Al - a - mero	0.690	0.124	17.959	0.785	0.169	21.542
Al - p mero	0.657	0.178	27.146	0.737	0.128	17.341
Al - a - isqui	0.675	0.196	29.020	0.749	0.100	13.309
Al - p - isqui	0.539	0.137	25.427	0.702	0.116	16.569
L - queia	6.231	0.930	14.929	6.444	0.887	13.770

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla XXI Estadísticos descriptivos para 37 caracteres, medidos (mm) para machos y hembras de la población de *Macrobrachium* sp. 2 de San Antonio.

	Machos			Hembras		
	Media	Dev. Std	Cv	Media	Dev. Std	Cv
Longitud total	31.000	2.915	9.405	29.800	1.304	4.375
Longitud abdomen	18.242	2.011	11.025	17.593	0.853	4.849
Espada	6.373	0.605	9.490	6.542	0.576	8.803
Cuerpo	6.450	0.763	11.827	5.711	0.257	4.494
Cefaloto	12.758	1.320	10.349	12.207	0.641	5.255
Esp - Hepa	0.667	0.103	15.481	0.688	0.256	37.187
Esp - Ante	0.621	0.064	10.241	0.529	0.093	17.559
Rostro	4.778	0.455	9.522	4.713	0.382	8.111
Posc - 1 - EA	0.701	0.083	11.903	0.626	0.135	21.496
Posc - 2 - EA	1.090	0.228	20.915	1.011	0.110	10.843
Posc - 1 - EH	2.291	0.050	2.173	2.098	0.239	11.368
Posc - 2 - EH	2.289	0.159	6.934	2.121	0.245	11.572
Dis - EA - EH	1.597	0.054	3.397	1.473	0.231	15.671
L - dfijoe	2.925	0.609	20.839	2.412	0.244	10.105
A - palma	1.609	0.385	23.940	1.167	0.090	7.750
A - acarp	1.201	0.301	25.054	0.892	0.103	11.525
Aa - pcarp	0.676	0.150	22.186	0.508	0.058	11.338
L - carp	3.506	0.497	14.178	3.315	0.170	5.117
A - a - mero	0.942	0.228	24.233	0.682	0.118	17.308
A - p - mero	0.658	0.179	27.182	0.565	0.071	12.620
A - aisqu	0.629	0.163	25.927	0.529	0.064	12.012
L - mero	4.215	0.667	15.824	3.516	0.297	8.439
A - pisqu	0.463	0.083	17.959	0.460	0.123	26.666
L - pisqu	3.272	0.510	15.588	3.090	0.586	18.973
L - isqui	3.339	0.740	22.152	2.693	0.251	9.331
L - dfijoi	2.892	0.675	23.336	2.396	0.264	11.027
L - totpat	18.684	3.230	17.286	15.645	1.552	9.922
L - palma	5.008	1.044	20.844	3.589	0.462	12.883
L - patasi	15.930	2.607	16.368	13.402	1.337	9.973
Al - palma	1.354	0.302	22.315	1.014	0.101	9.987
Al - acarpo	1.139	0.247	21.717	0.937	0.086	9.167
Al - pcarpo	0.653	0.141	21.568	0.509	0.060	11.763
Al - a - mero	0.842	0.184	21.842	0.656	0.103	15.691
Al - p mero	0.861	0.238	27.672	0.654	0.083	12.619
Al - a - isqui	0.848	0.282	33.273	0.669	0.119	17.810
Al - p - isqui	0.719	0.253	35.126	0.598	0.093	15.557
L - quela	7.564	1.337	17.682	6.093	0.668	10.957

b. Coeficiente de variación

Al analizar el coeficiente de variación (CV) para las tres poblaciones de desarrollo abreviado, se tiene que los 37 caracteres estudiados (que son las medidas de los artejos), varían entre 9.98 y 38% para los ejemplares machos de *M. tuxtlaense*, con un promedio de 21.98%. Valores entre 4.21 y 29% para los machos de *Macrobrachium* sp. 1 y con promedio de 16.98% y entre 2.17 y 35% para los machos de *Macrobrachium* sp. 2 con un promedio de 18.02%. Los valores más altos se relacionan al alto y ancho del isquio.

En el caso de las hembras el CV fluctuó entre 7.9 y 25.5% para *M. tuxtlaense*, sólo el alto anterior del isquio es el carácter que presenta una mayor variación (33%), y el total de los caracteres en promedio presentan un CV de 15.39%. El CV para las hembras de *Macrobrachium* sp. 1, fluctuó entre 9.3 y 22.0%, valor que correspondió al ancho posterior del mero el promedio fue de 16.95%. En el caso de *Macrobrachium* sp. 2, el CV de las hembras fluctuó entre 4.3 y 37%, valor que correspondió a la longitud de la espina hepática, el coeficiente de variación promedio para esta población fue de 12.44%.

Es interesante mencionar que los coeficientes de variación de los caracteres, en las hembras de las tres poblaciones, son más uniformes que los de los machos. Así, tanto en ejemplares machos como hembras los CV más altos están relacionados con las mediciones del isquio (Tablas XIX, XX y XXI) y (Figs. 24, 25, 26)).

El coeficiente de variación de las doce proporciones establecidas a partir de algunas mediciones, en las tres poblaciones, es considerablemente menor y tiende a ser más uniforme (Figs. 24, 25 y 26 desde la variable 42 a la 53).

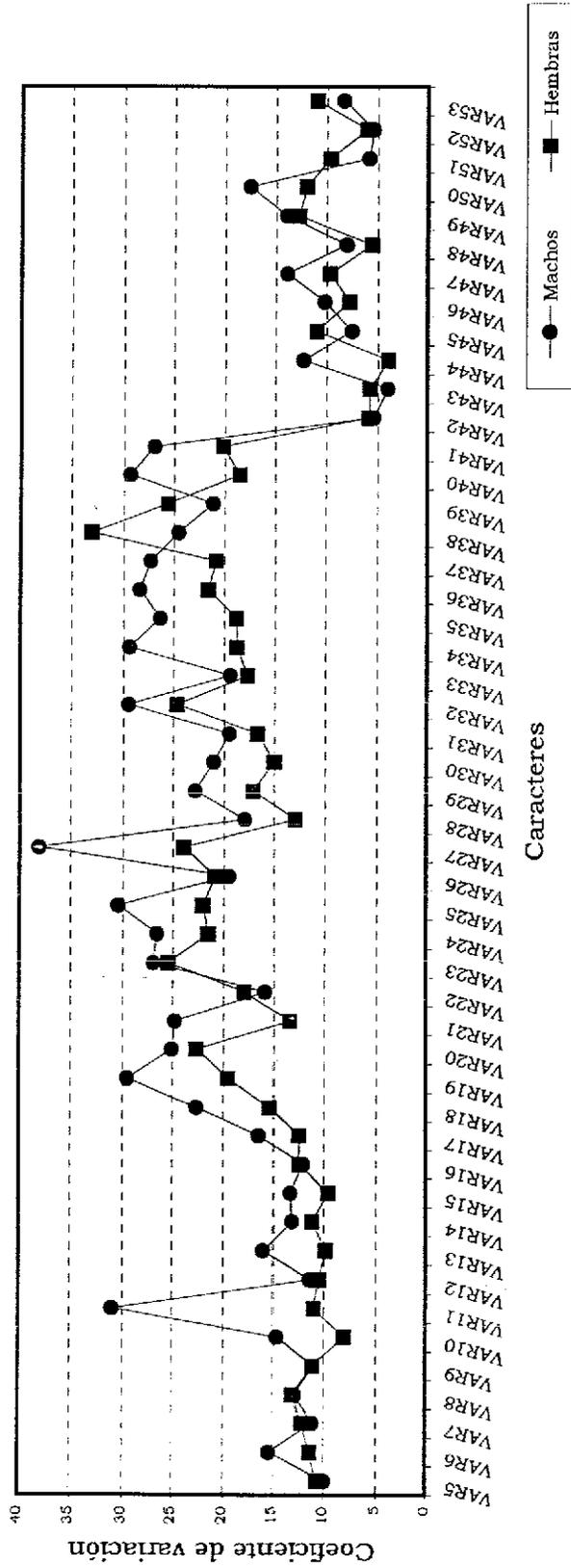


Fig. 24. Gráfica de los coeficientes de variación para 37 caracteres morfológicos (var 5 - 41) y 12 proporciones (var 42 - 53). Comparando machos y hembras de *M. tuxtlae* del Arroyo Las Margaritas de Catemaco, Veracruz.

ESTADÍSTICAS CON
FALLA DE ORIGEN

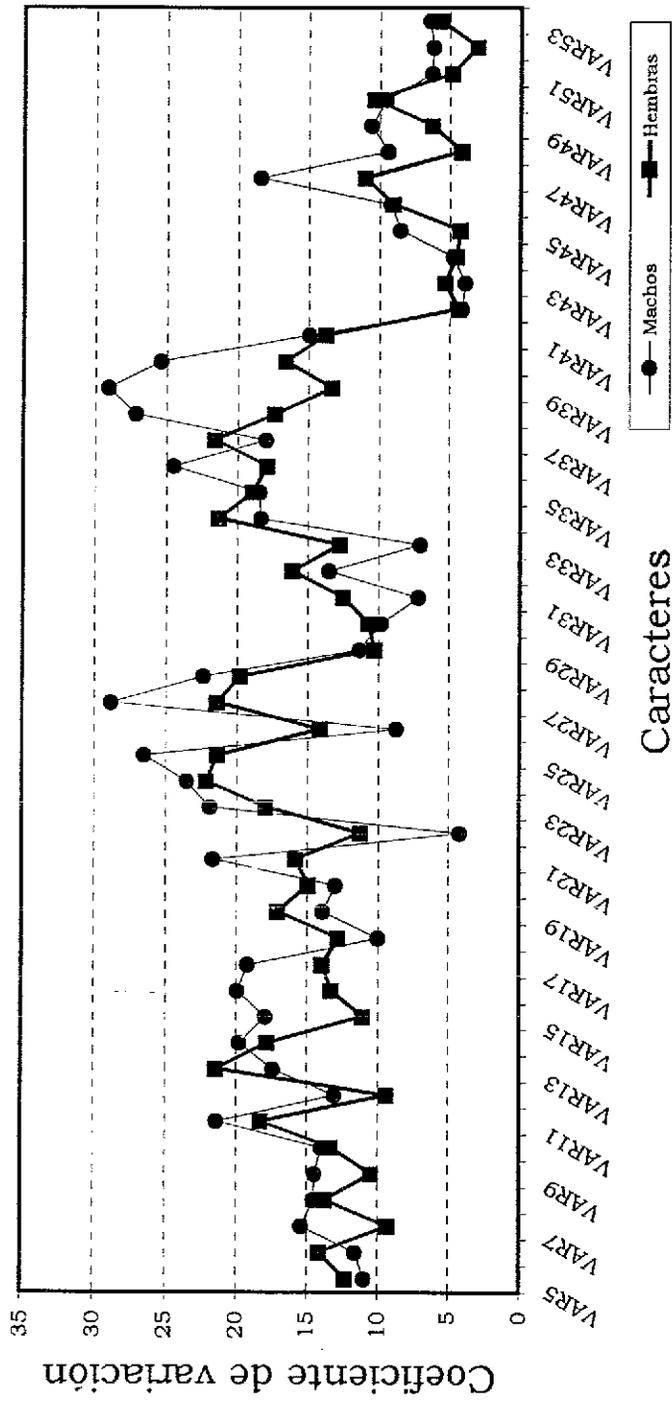


Fig. 25. Gráfica de las coeficientes de variación para 37 caracteres morfológicos (var 5 - 41) y 12 proporciones (var 42 - 53). Comparando machos y hembras de *Macrobrachium* sp. 1 del Arroyo Santiagoullo, Veracruz.

TESIS CON
 TALLA EN COPIA

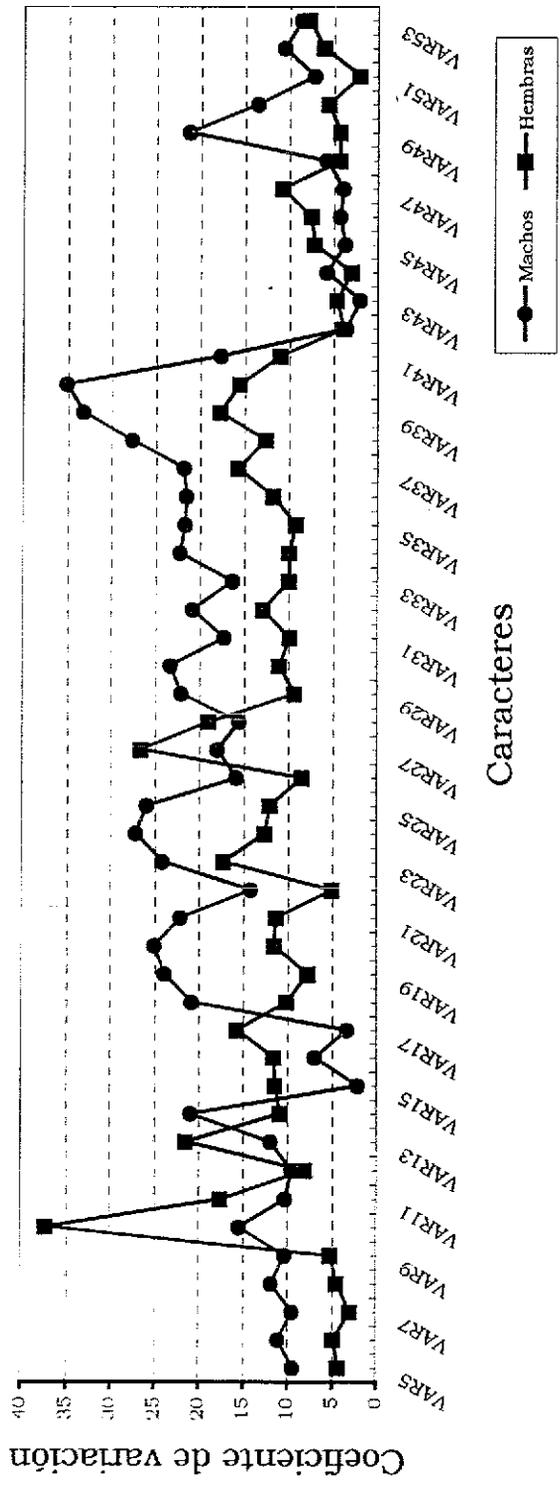


Fig. 26. Gráfica de los coeficientes de variación para 37 caracteres morfológicos [var 5 - 41) y 12 proporciones (var 42 - 53). Comparando machos y hembras de *Macrobrachium* sp.2 de Tabasco.

TIPO CON FALLA DE ORIGEN

c. Análisis de varianza

El análisis de varianza se hizo por sitio, comparando las tres poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado en estudio y por sexo dentro de cada población y entre ellas, obteniendo los resultados que se resumen en la Tabla XXII, y se describen como sigue:

Macrobrachium tuxtlaense, se puede diferenciar significativamente de *Macrobrachium* sp. 1 en 20 de los 37 caracteres medidos y en 4 de las 12 proporciones establecidas. Esos 20 caracteres significativamente distintos incluyen la: longitud del abdomen, longitud del cefalotorax, longitud de la espina hepática, longitud del rostro, distancia desde la base de la espina antenal al margen supraorbital, distancia entre la espina hepática y la espina antenal, longitud, externa, del dedo fijo, ancho posterior del carpo, longitud del carpo, ancho anterior del isquío, longitud del isquío, longitud del dedo móvil, longitud, interna, del dedo fijo, longitud total del pereiópodo, longitud del pereiópodo sin dedos, longitud de la palma, alto anterior del carpo, alto posterior del carpo, alto anterior del mero y longitud de la quela. Asimismo, *M. tuxtlaense* puede diferenciarse significativamente de *Macrobrachium* sp. 2 por 12 mediciones y 4 proporciones, estos atributos incluyen la longitud total de los ejemplares y las longitudes del cefalotórax y las espinas antenal y hepática, del segundo pereiópodo solo se incluyen mediciones relacionadas con el carpo y la quela.

Las diferencias entre las poblaciones de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 son mínimas, ya que solo se pueden distinguir por 6 de los 37 caracteres establecidos y por cuatro proporciones; entre los caracteres se incluyen la longitud del abdomen, del rostro, la distancia desde la base de la espina hepática al centro de la órbita, el ancho y alto de la palma y el alto anterior del carpo (Tabla XXII y las gráficas del análisis de varianza se presentan en el anexo 3)

Las diferencias entre machos y hembras de *M. tuxtlaense* están dadas por: la longitud del cefalotórax, la longitud desde la inflexión del rostro, longitud del rostro, distancia desde la base de la espina hepática y antenal al centro de la

órbita, la distancia desde la base de la espina antenal al margen suborbital y la distancia entre la base de ambas espinas, el ancho anterior del mero, la longitud del dedo móvil, la longitud de la quela y la relación de la longitud de la quela con respecto de la longitud total del segundo pereiópodo. (Tabla XXII. Gráficas del análisis de varianza en el anexo 3).

Los machos y las hembras de la población de *Macrobrachium* sp. 1, se diferencian por el alto posterior del isquio y las proporciones de la longitud del rostro con relación a la longitud del cefalotórax y la longitud desde la inflexión del rostro con relación al cefalotórax.

Finalmente, los machos y las hembras de la población de *Macrobrachium* sp. 2, se diferencian significativamente por el ancho y alto de la palma, ancho posterior del carpo, la longitud total del segundo pereiópodo y por las proporciones longitud del rostro y longitud desde la inflexión del rostro con respecto al cefalotórax (Tabla XXII, gráficas del análisis de varianza, en el anexo 3).

Si el análisis se hace entre machos, por sitio, se tiene que los machos de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1, son distintos prácticamente en todos los caracteres, 30 de los 36 medidos. Se asemejan solo en la longitud total de los ejemplares, en la longitud del abdomen, en la longitud de la espina antenal y en la distancia desde la base de la espina hepática al margen suborbital y al centro de la órbita como en el ancho posterior del isquio y el alto posterior del mismo artejo. Machos de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2, son significativamente distintos solo en seis caracteres: la longitud total, longitud desde la inflexión del rostro, longitud del cefalotórax, longitud del rostro y la distancia desde las bases de la espina hepática y antenal al centro de la órbita. En cuanto a las proporciones, estas poblaciones de machos se diferencian en la longitud del rostro y desde la inflexión del rostro con relación al cefalotórax, la longitud del carpo con relación a la longitud total del segundo pereiópodo, el ancho de la quela con relación a su longitud y la longitud interna del dedo fijo con relación a la longitud de la quela (Tabla XXII y gráficas del análisis de varianza en el anexo 3).

Por último, los ejemplares machos de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2, se diferencian significativamente en caracteres asociados al segundo pereiópodo como: el largo, ancho y alto de la palma, ancho posterior del carpo, ancho anterior del mero, largo del mero, longitud del dedo móvil, la longitud total del segundo pereiópodo y la longitud de la quela (Tabla XXII y gráficas del análisis de varianza en el anexo 3).

La comparación de varianza entre hembras de las tres poblaciones indica que la población de hembras de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1 se diferencian significativamente solo en dos de los 36 caracteres estudiados y son la longitud de la espina hepática y la distancia de la espina hepática al margen suborbital, en cuanto a las proporciones se diferencian en: la longitud del rostro y desde la inflexión del rostro con relación al cefalotórax. (Tabla XXII y gráficas del análisis de varianza en el anexo 3).

Las hembras de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2 se diferencian significativamente por la longitud total de los ejemplares, el largo desde la inflexión del rostro, la longitud del cefalotórax, la longitud del rostro como la de la espina antenal, en el ancho posterior del carpo, la longitud interna del dedo fijo y en el alto posterior del carpo.

Finalmente, las hembras de *Macrobrachium* sp. 1 y las de *Macrobrachium* sp. 2 se pueden diferenciar significativamente solo por siete caracteres de los estudiados: longitud del cefalotórax, longitud del rostro, longitud del cuerpo, longitud de la espina antenal, la distancia desde la base de la espina hepática al margen suborbital y al centro de la órbita y el ancho anterior del carpo (Tabla XXII y gráficas del análisis de varianza en el anexo 3).

Tabla XXII. Resumen del análisis de varianza en las tres poblaciones del género *Macrobrachium*, con desarrollo abreviado en estudio. Comparación entre poblaciones, sexo intrapoblacional, sexo interpoblacional = 0.05, * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.001 (Las gráficas del análisis de varianza se muestran en el anexo 3).

Caracteres	Entre poblaciones			Sexos por poblaciones			Hembras entre poblaciones			Machos entre poblaciones		
	Cat-Stgo	Cat-San	Stgo-San	M-H Cat	M-H Stgo	M-H San	Hembras Cat- Stgo	Hembras Cat-San	Hembras Stgo-San	Machos Cat-Satg.	Machos Cat-San	Machos Stgo-San
	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
VAR5		11.52**						5.47*			5.11*	
VAR6			4.41*									
VAR7	24.06***	26.19***		7.09*				5.81*		23.25***	24.76***	
VAR8		7.24*						4.87*	7.15*	9.29**		
VAR9	13.09***	19.30***		5.40*				7.20*	4.89*	17.57***	12.66**	
VAR10	19.47***						12.93**			8.29**		
VAR11								6.29*	6.94*			
VAR12	22.12***	35.15***	5.74*	7.11*				13.73*	5.60*	21.95***	25.38***	
VAR13		4.67*					4.57*		5.36*			
VAR14		11.65**	6.43*	5.00*				6.15**	8.33		6.00*	
VAR15	8.10**	6.00*		8.73**						9.89**		
VAR16		7.80**		10.12**						8.81**	7.32*	
VAR17	13.11***			7.08*						10.43**		
VAR18	8.04**									6.50*		
VAR19			5.98*			6.22*				4.61*		14.35**
VAR20									5.36	5.83*		
VAR21	14.97***					5.42*		8.80*		12.94**		6.79*
VAR22	5.09*	6.95*								6.67*		
VAR23				7.19*						6.32*		6.09*
VAR24										6.29*		
VAR25	6.29**									5.60*		
VAR26										5.53*		5.02*
VAR27												
VAR28	7.11*									8.01**		
VAR29	9.81**			4.77*						11.09**		5.18*
VAR30	9.81**	4.88*						5.48*		9.14**		
VAR31	8.00**					3.59*				8.85**		6.15*
VAR32	6.96*		5.04*							6.66*		13.34**
VAR33	7.56**									8.69**		7.62*
VAR34			6.02*			5.67*				4.99*		12.65**
VAR35	6.82*									7.20*		
VAR36	8.35**	4.84*						7.96*		5.66*		
VAR37	6.62*									7.74*		
VAR38										5.42*		
VAR39												
VAR40						6.91*				6.08*		
VAR41	6.37*			4.98*						7.35*		4.86*
VAR42	5.55*	20.07***	7.45*		5.28*		4.65*				16.08***	14.30**
VAR43	14.17***	8.30*			4.79*	8.46*	7.08*		5.15*	6.66*	23.74***	7.31*
VAR44	8.30**									7.58*		
VAR45			11.30**			10.45*				4.43*	6.09*	13.32**
VAR46												
VAR47												
VAR48				15.77***								
VAR49		12.47**	7.70*								11.07**	5.74*
VAR50												
VAR51												
VAR52	2.24*	10.87**	4.71*								5.84*	
VAR53												

d. Análisis de variación entre especies

Para el análisis de componentes principales de las tres poblaciones de desarrollo abreviado, de las distintas localidades en estudio, la matriz de datos estuvo conformada por un número total de 53 ejemplares, por 37 caracteres, y se encontró que los tres primeros componentes principales explican el 77.05% de la varianza (Tabla XXIII).

Tabla XXIII. Muestra el resultado del análisis de componentes principales, para los 37 caracteres medidos en las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado.

No. De Componentes	% de variación	% acumulado de variación
1	62.72231	62.72231
2	8.76502	71.48734
3	5.56348	77.05082

Asociados al primer componente se encuentran dieciocho caracteres, todos relacionados con el ancho, alto y largo de los artejos del segundo pereiópodo: longitud interna y externa del dedo fijo, longitud del mero, longitud total del segundo pereiópodo, longitud del pereiópodo sin dedos, longitud de la palma y longitud de la quela, ancho de la palma, ancho anterior y posterior del carpo, ancho posterior del mero, alto anterior y posterior del mero y alto anterior del isquio (Tabla XXIV).

El segundo componente principal asocia a siete caracteres relacionados al cefalotórax y el tercero de ellos asocia sólo a dos caracteres, que son la longitud de la espina antenal y la posición de la espina hepática respecto al margen suborbital (Tabla XXIV). En la representación gráfica del análisis de componentes principales (1 vs 2) (Fig. 27) no se aprecia una evidente separación de la nube de datos que representan a cada una de las poblaciones.

Tabla XXIV. Muestra la relación de variables asociadas a los tres primeros componentes principales del análisis, para datos de *Macrobrachium* spp, con desarrollo abreviado.

Caracter	Componente 1	Componente 2	Componente 3
L_TOTAL	0.510820	0.511846	0.512855
L_ABDOM	0.436970	0.084900	0.586358
ESPADA	0.365090	0.826606	0.155213
CUERPO	0.421000	0.718200	0.312225
CEPALOTO	0.418330	0.840454	0.243773
ESP_HEPA	0.118540	0.441738	0.102321
ESP_ANTE	0.134600	0.157735	0.316729
ROSTRO	0.332770	0.820329	0.161475
POSC - 1 - EA	0.083720	0.426192	0.782864
POSC - 2 - EA	0.016410	0.604940	0.547722
POSC - 1 - EH	0.349650	0.874714	0.186319
POSC - 2 - EH	0.272770	0.835751	0.360670
DIS - EA - EH	0.372320	0.838491	-0.156858
L_DFLJOE	0.810330	0.408415	0.123963
A - PALMA	0.888080	0.102779	0.173543
A_ACARP	0.861210	0.225179	0.308614
A_PCARP	0.702890	0.494562	0.187219
L_CARP	0.686620	0.259941	0.247126
A_A_MERO	0.771270	0.274537	0.318885
A_P_MERO	0.716710	0.271494	0.533122
A_AISQUI	0.587070	0.288229	0.552732
L_MERO	0.840580	0.127340	0.157094
A_PISQU	0.394560	0.009406	0.555265
L_ISQUI	0.612810	0.449397	0.286732
L_DEMOVI	0.862690	0.375227	0.171230
L_DFLJOI	0.839760	0.408264	0.164500
L_TOTPAT	0.889840	0.337047	0.223070
L_PALMA	0.912210	0.286383	0.188445
L_PATASI	0.889640	0.316355	0.227679
AL_PALMA	0.876370	0.181201	0.149558
AL_ACARPO	0.843370	0.330825	0.160401
AL_PCARPO	0.689720	0.255068	0.202033
AL_A_MERO	0.780360	0.295968	0.335135
A_P_MERO	0.736520	0.405586	0.108325
AL_A_ISQUI	0.710060	0.264834	0.142824
AL_P_ISQUI	0.655620	0.367787	0.016514
L_QUELA	0.864510	0.388266	0.185076

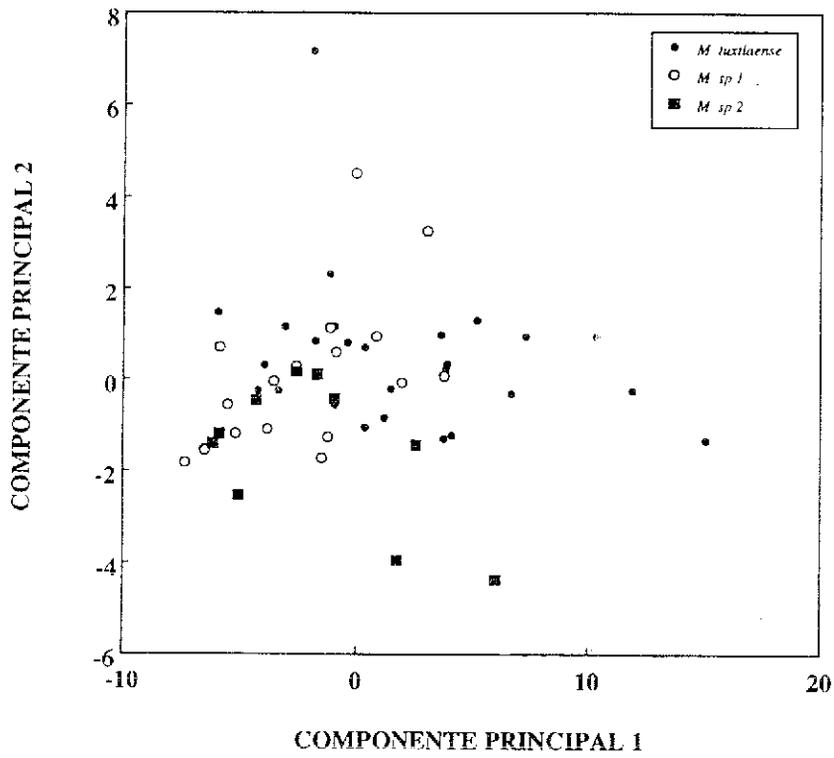


Fig. 27 Análisis de componentes principales para tres poblaciones de *Macrobrachium* spp con desarrollo abreviado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados del análisis de función discriminante, para las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado integran veintiún variables de las treinta y siete consideradas en el estudio (Tabla XXV), las que se incluyen en dos factores. De estas veintiún variables sólo doce coinciden con las incluidas en el análisis de componentes principales. La clasificación de la matriz indica que los ejemplares de las poblaciones de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2, están clasificadas correctamente con un 100% de aciertos; mientras que *Macrobrachium* sp. 1 tiene un 94% de aciertos en la clasificación de los ejemplares (Tablas XXV y XXVI), lo que se ve representado en la figura 28, donde la nube de ejemplares de cada una de las tres poblaciones está claramente diferenciada sugiriendo que las poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado en estudio, están diferenciadas morfométricamente por localidad o sitio. Si se hace el mismo análisis discriminante por sexo, para las tres poblaciones de desarrollo abreviado, se tiene que machos y hembras de cada población están clasificados en un grupo independiente con un 100% de aciertos (Tabla XXVII), representadas en la figura 29, lo que indica que las poblaciones están diferenciadas por sexo entre y dentro de ellas.

Tabla XXV. Resumen del análisis de función discriminante. 21 variables incluíd en el modelo. Wilks' Lambda: 0.03617 aprox. $F(42,6) = 6.0833$ $p < 0.00000$

	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (2,30)	p-level	Toler	1-Toler (R-Sqr.)
ROSTRO	0.039	0.939	0.968	0.391	0.047	0.953
AL_PALMA	0.044	0.820	3.288	0.051	0.076	0.924
A_PCARPO	0.039	0.921	1.288	0.291	0.251	0.749
P1_ESPHE	0.039	0.918	1.338	0.278	0.179	0.821
ESP_HEPA	0.041	0.875	2.140	0.135	0.550	0.450
ESPADA	0.054	0.671	7.358	0.003	0.000	1.000
A_P_MERO	0.045	0.797	3.812	0.033	0.144	0.856
L_ABDOM	0.036	0.998	0.036	0.965	0.367	0.633
A_AISQUI	0.045	0.807	3.597	0.040	0.167	0.833
A_PISQUI	0.045	0.800	3.747	0.035	0.273	0.727
L_CARPO	0.052	0.691	6.723	0.004	0.222	0.778
P2_ESHEP	0.043	0.844	2.771	0.079	0.377	0.623
A_A_MERO	0.040	0.901	1.639	0.211	0.120	0.880
CEFALOTO	0.053	0.687	6.837	0.004	0.000	1.000
CUERPO	0.052	0.691	6.694	0.004	0.000	1.000
L_QUELA	0.045	0.799	3.764	0.035	0.049	0.951
A_PCARPO	0.041	0.876	2.129	0.137	0.238	0.762
ESP_ANTE	0.039	0.933	1.070	0.356	0.197	0.803
A_ACARPO	0.041	0.882	2.002	0.153	0.073	0.927
L_ISQUIO	0.041	0.886	1.932	0.162	0.291	0.709
A_P_ISQU	0.039	0.928	1.156	0.328	0.202	0.798

Tabla XXVI Análisis discriminante por sitio para poblaciones de *Macrobrachium* spp. Clasificación de la matriz, en las filas se indica la clasificación observada y en las columnas la clasificación esperada.

Grupo	Percent Correct	G_1:1 p = 0.49057	G_2:2 p = 0.32075	G_3:3 p = 0.18868
G - 1:1	100.0000	26	0	0
G - 2:2	94.1176	1	16	0
G - 3:3	100.0000	0	0	10
Total	98.1132	27	16	10

Tabla XXVII. Clasificación de la matriz por sexo, para poblaciones de *Macrobrachium* spp. De desarrollo abreviad. Clasificación de la matriz, en las filas se indica la clasificación observada y en las columnas la clasificación observada.

	Percent Correct	G_1:1 p=.30189	G_2:2 p=.18868	G_3:3 p=.16981	G_4:4 p=.15094	G_5:5 p=.094434	G_6:6 p=.094434
G - 1:1	100.0	16	0	0	0	0	0
G - 2:2	100.0	0	10	0	0	0	0
G - 3:3	100.0	0	0	9	0	0	0
G - :4	100.0	0	0	0	8	0	0
G - 5:5	100.0	0	0	0	0	5	0
G - 6:6	100.0	0	0	0	0	0	5
Total	100.0	16	10	9	8	5	5

TEJIS CON
FALLA DE ORIGEN

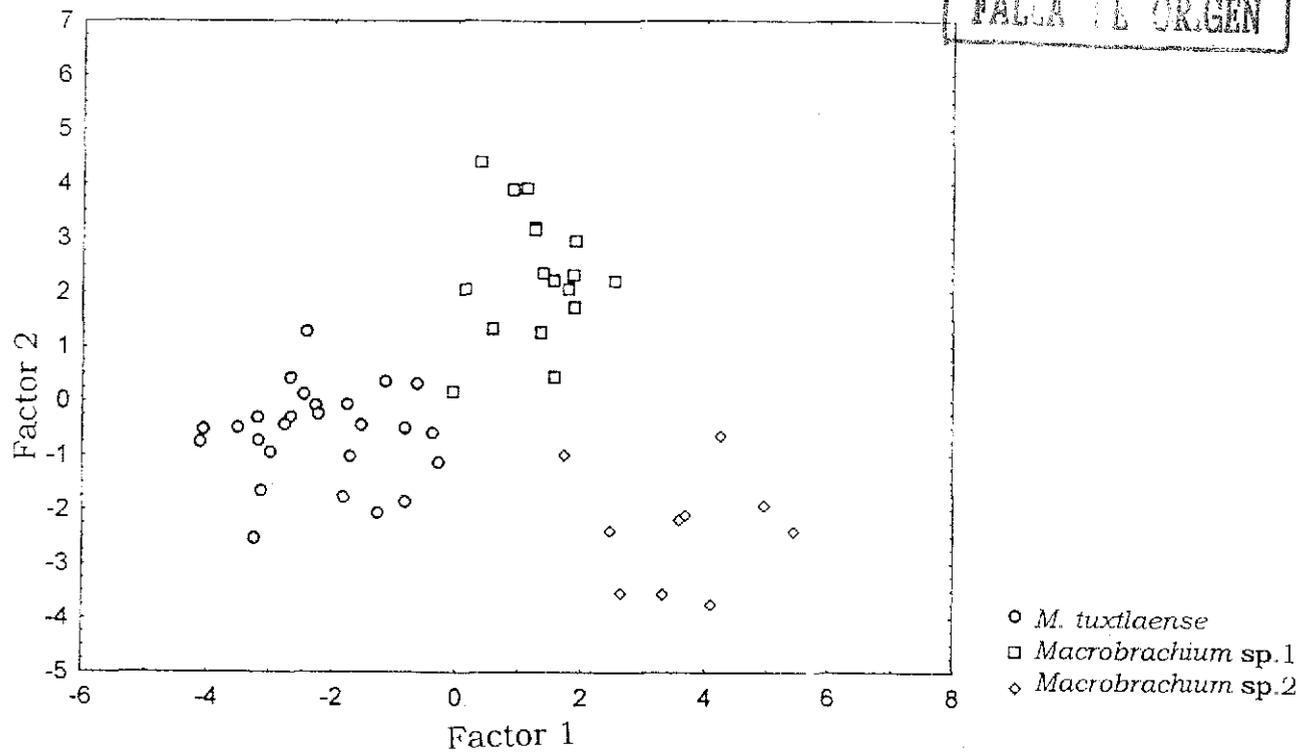


Fig. 28 Factores principales del análisis discriminante, por sitio, para las tres poblaciones de *Macrobrachium* spp con desarrollo abreviado.

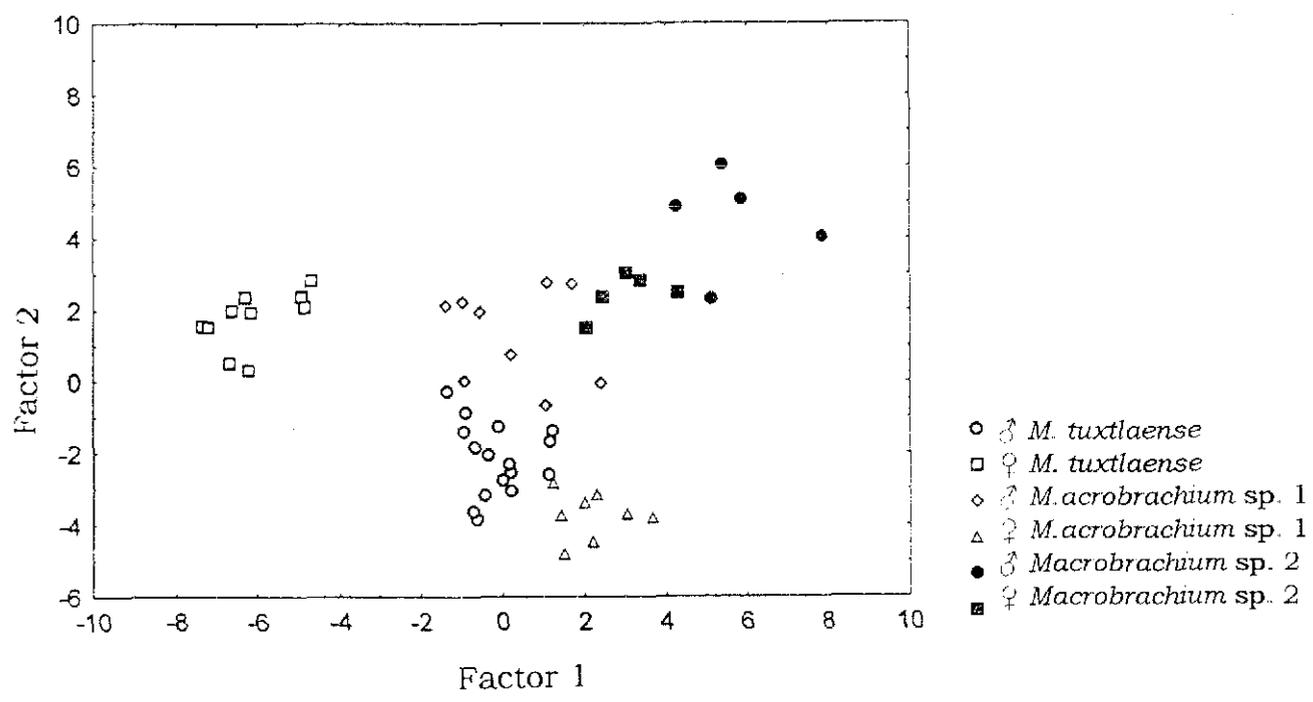
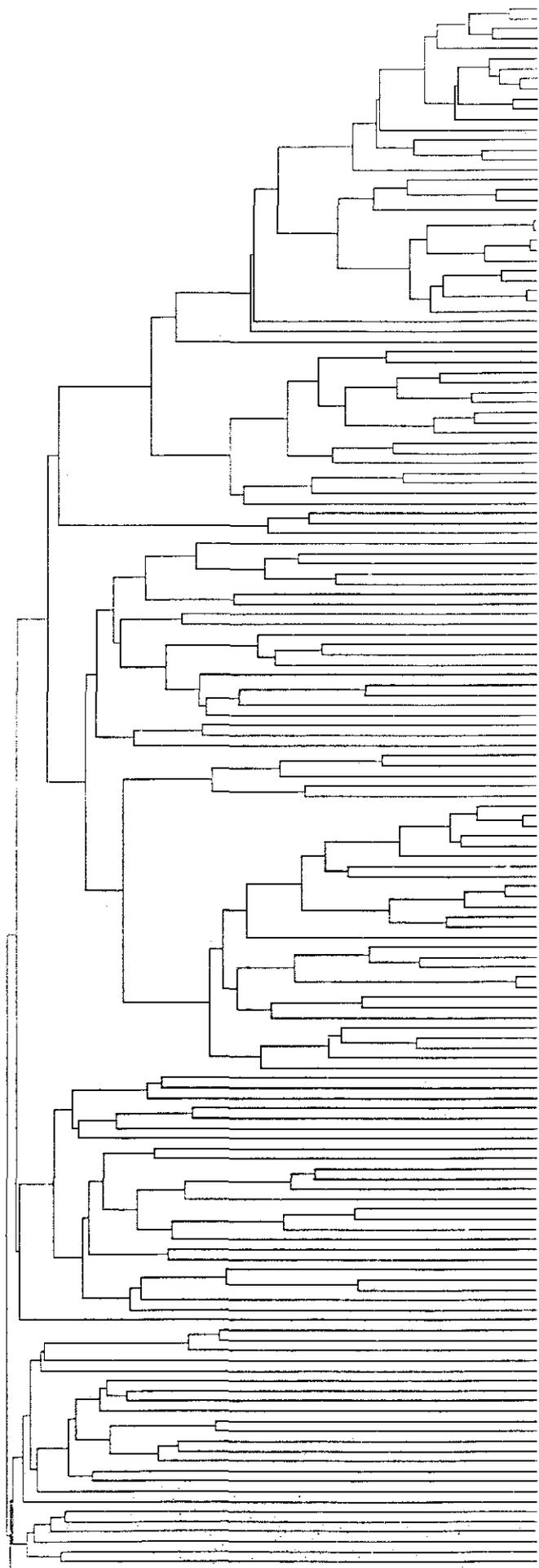


Fig. 29 Factores principales del análisis discriminante, por sexo, para las tres poblaciones de *Macrobrachium* spp con desarrollo abreviado.

Con el agrupamiento de las poblaciones, estilo UPGMA, mediante caracteres morfométricos se pretendía determinar que tan dispersos están los organismos de cada población, ver si la variabilidad morfométrica entre poblaciones permite que los organismos se agrupen como poblaciones independientes. El fenograma de la figura 30 indica que hay una tendencia a encontrar agrupados a los organismos que definen a cada población, la parte superior del fenograma hay tres grupos que incluyen a las poblaciones de desarrollo abreviado aunque los organismos están mezclados principalmente los de la población de *Macrobrachium* sp.2. En la parte inferior del fenograma hay una tendencia a encontrar cuatro grupos de *M. acanthurus* de desarrollo completo; el primero mezcla a ejemplares de las cuatro poblaciones pero principalmente incluye a organismo de la población de Tabasco, el segundo grupo incluye a ejemplares de la población Alvarado y los últimos dos grupos, mejor definidos que los anteriores agrupan a las poblaciones de Montepío y Sontecomapan respectivamente.

A partir del análisis de comparación de medias se caracterizaron los caracteres morfométricos (37 atributos) conformando una matriz de presencia / ausencia de (7 x 122). A partir de ésta matriz y mediante el método de parsimonia, con un bootstrap de 100 réplicas, se construyó el fenograma de la figura 31 en el que se observa una politomía conformada por cuatro ramas principales. La primera rama soporta a la población de *M. tuxtlaense*, la segunda a *Macrobrachium* sp. 1 y la tercera a *Macrobrachium* sp.2. La cuarta rama esta resuelta con una consistencia del 100% teniendo en cada uno de sus extremos a un par de poblaciones de *M. acanthurus*. La rama superior tiene una rama pequeña también resuelta a un 100% y soporta a las poblaciones de *M. acanthurus* de Sontecomapan y Montepío y la pequeña rama inferior también resuelta a un 100% soporta a las poblaciones de *M. acanthurus* de Alvarado y Tabasco. Las cuatro poblaciones están dibujadas exactamente iguales, sin cambios que se indiquen en la extensión de las ramas.

Fig. 30. Agrupamiento de las Poblaciones de langostinos estudiadas, estilo UPGMA, a partir de 37 caracteres morfométricos. Los números indican la población a la que corresponde cada ejemplar *M. tuxtleense* (1); *Macrobrachium* sp. 1 (2); *Macrobrachium* sp. 2 (3); *M. acanthurus* de Montepío (4); Sontecomapan (5); Alvarado (6) y Tabasco (7).



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

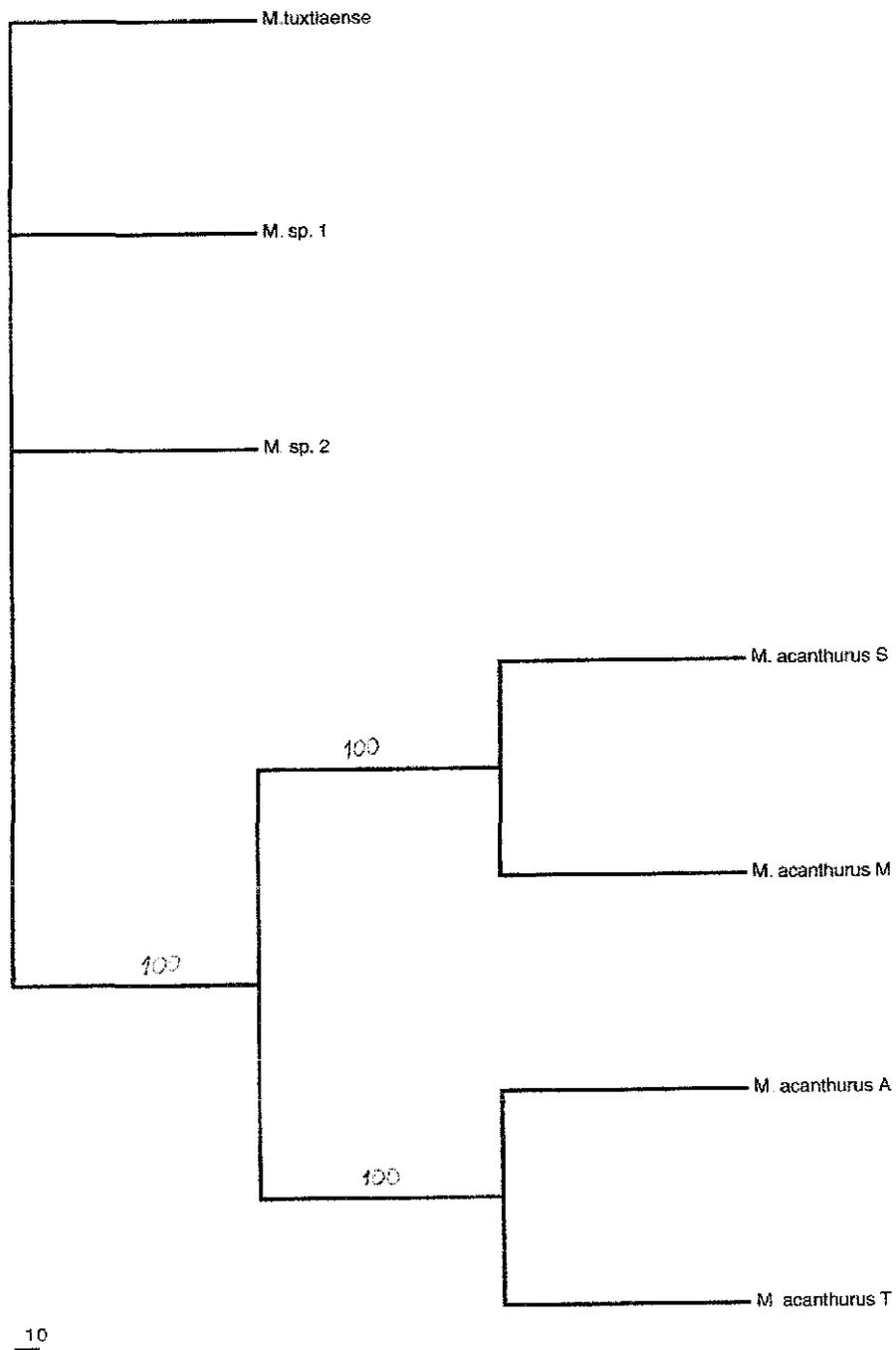


Fig. 31. Fenograma construido a partir de la caracterización de los 37 caracteres morfométricos medidos. Mediante el Método de parsimonia (bootstrap = 100 réplicas).

3.4. Análisis Morfológico

Mediante la superposición de pares de imágenes en el plano cartesiano, el programa TPS generó la imagen consenso o promedio que caracteriza la forma del caparazón y de la quela sin dedo móvil, de cada una de las tres poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado en estudio (Figs. 32 a y b y 33 a y b). La forma promedio de estas estructuras, al ser una imagen no deformada, conserva su ortogonalidad en todos sus ángulos; por ello la comparación angular de: (1) la inclinación del rostro con respecto a la horizontal; (2) de la órbita con respecto al margen posterior del rostro y (3) el ángulo que forman el dedo fijo y la base del dedo móvil de la quela del segundo pereiópodo, permiten encontrar diferencias entre las poblaciones.

Como resultado, se tiene que los ejemplares de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado, de las tres poblaciones estudiadas, tienen el rostro inclinado hacia abajo de la horizontal. En la población de *Macrobrachium* sp. 1, esta inclinación es menor que en las otras dos poblaciones (7.6°). En las imágenes promedio del caparazón de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2, el ángulo de inclinación del rostro con respecto a la horizontal es de 9.2° y 9.0°, respectivamente.

El ángulo formado por la órbita y el margen suborbital en la población de *Macrobrachium* sp. 1, es de 70.5°; mientras que en las poblaciones de *M. tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2; los ángulos fueron de 66.0° y 68.5°, respectivamente (Fig. 32 a y b).

Finalmente, el ángulo formado por el dedo fijo con relación a la base del dedo móvil es de 131° en promedio, para los ejemplares de *M. tuxtlaense* y de 123° y 123.5°, para la figura consenso de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 (Fig. 33 a y b).

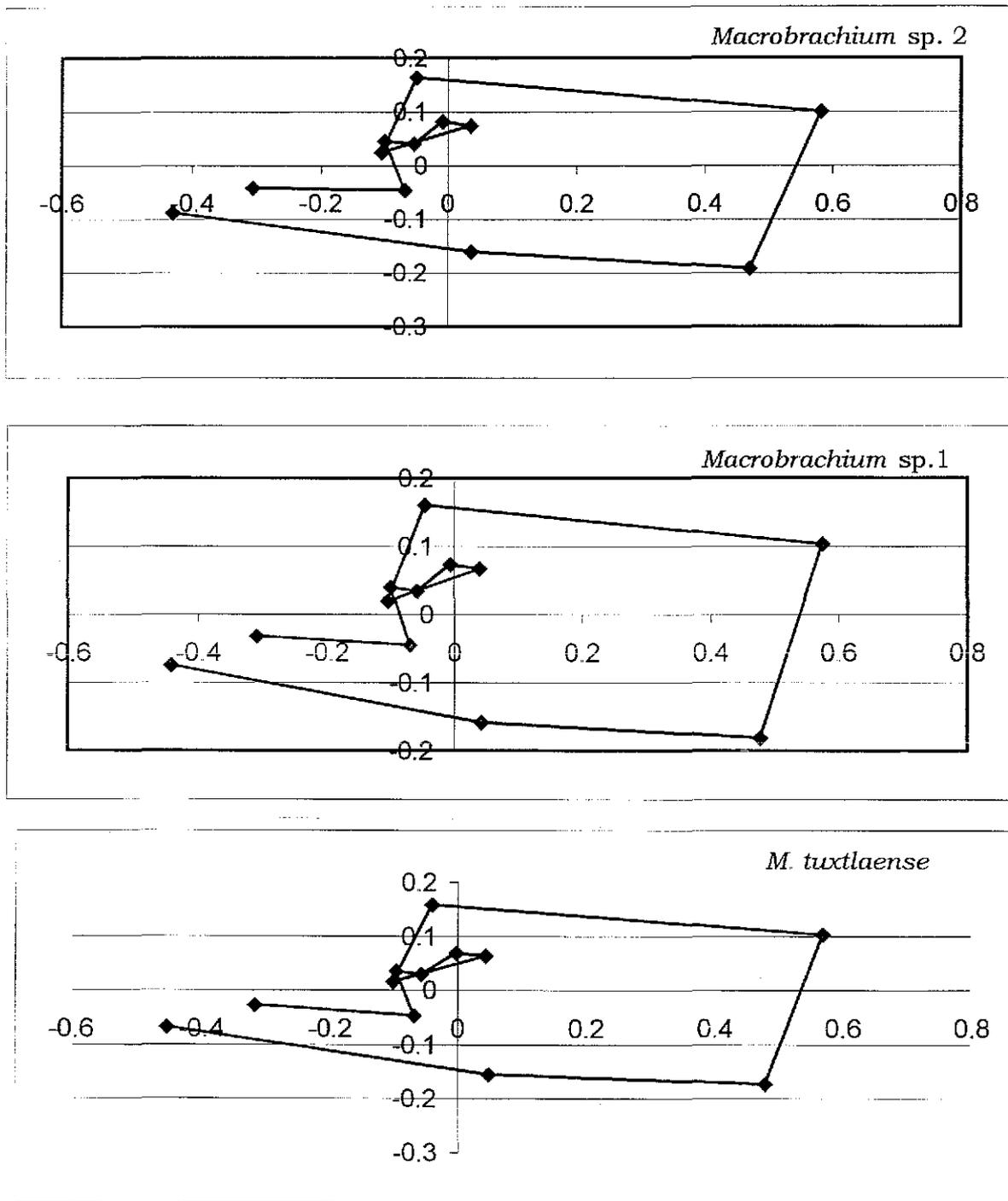


Fig. 32 a. Forma consenso del caparazón de cada una de las tres poblaciones de *Macrobrachium* spp con desarrollo abreviado, (en línea recta).

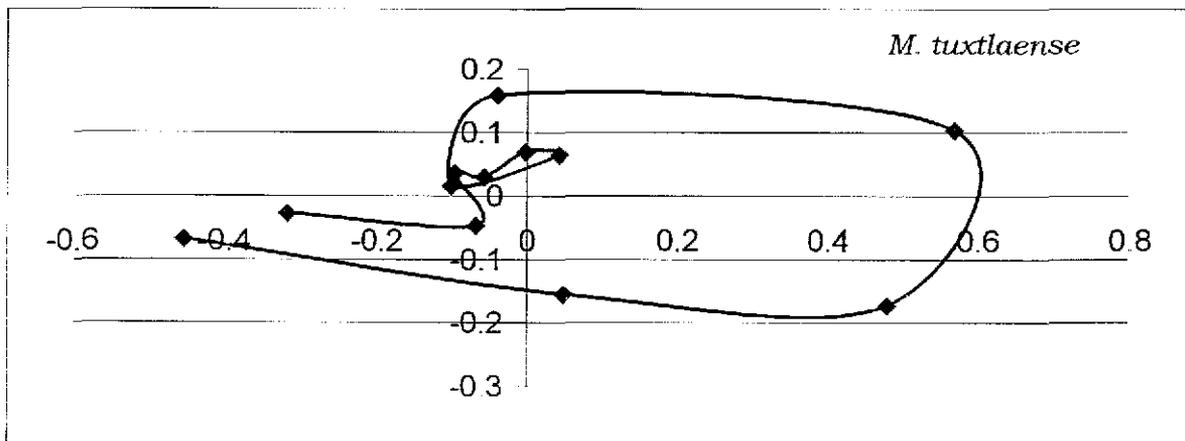
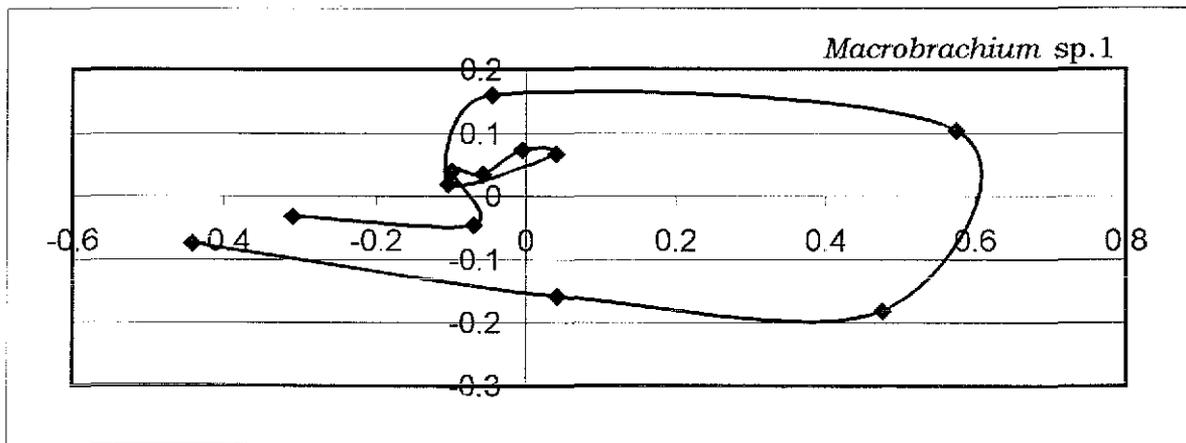
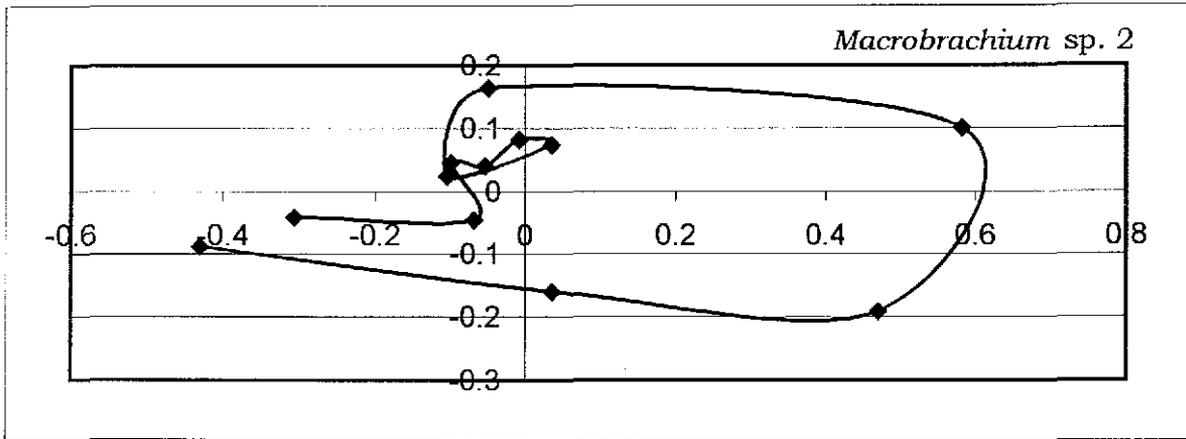


Fig. 32b. Forma consenso del caparazón de cada una de las tres poblaciones de *Macrobrachium* spp con desarrollo abreviado, (en línea curva).

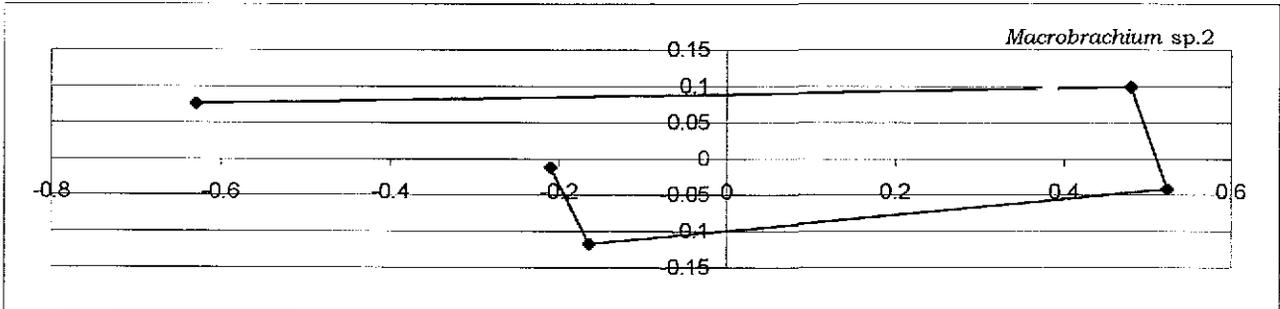
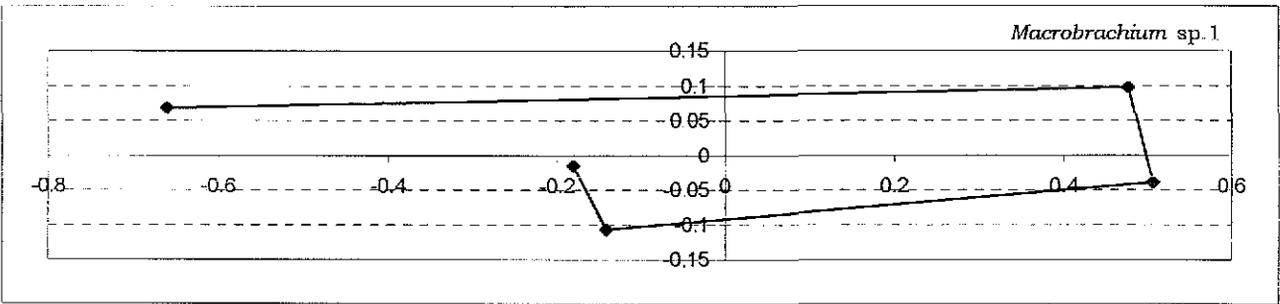
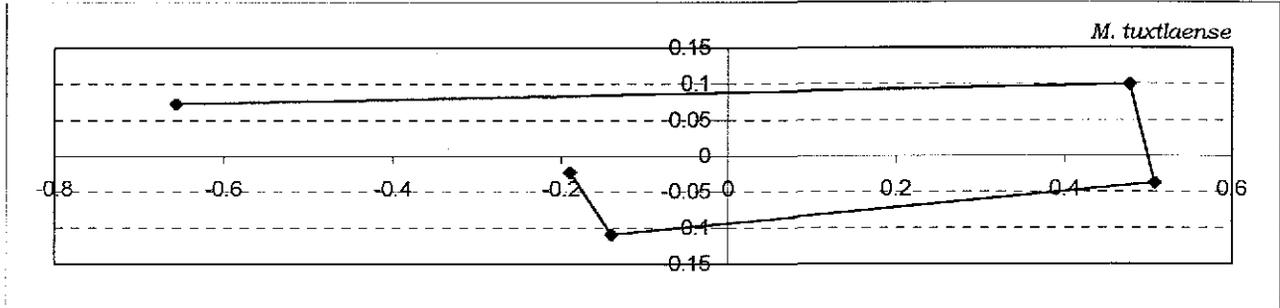


Fig. 33a. Forma consenso de la quela, sin dedo móvil, de las tres poblaciones de *Macrobrachium* spp. con desarrollo abreviado (Línea recta).

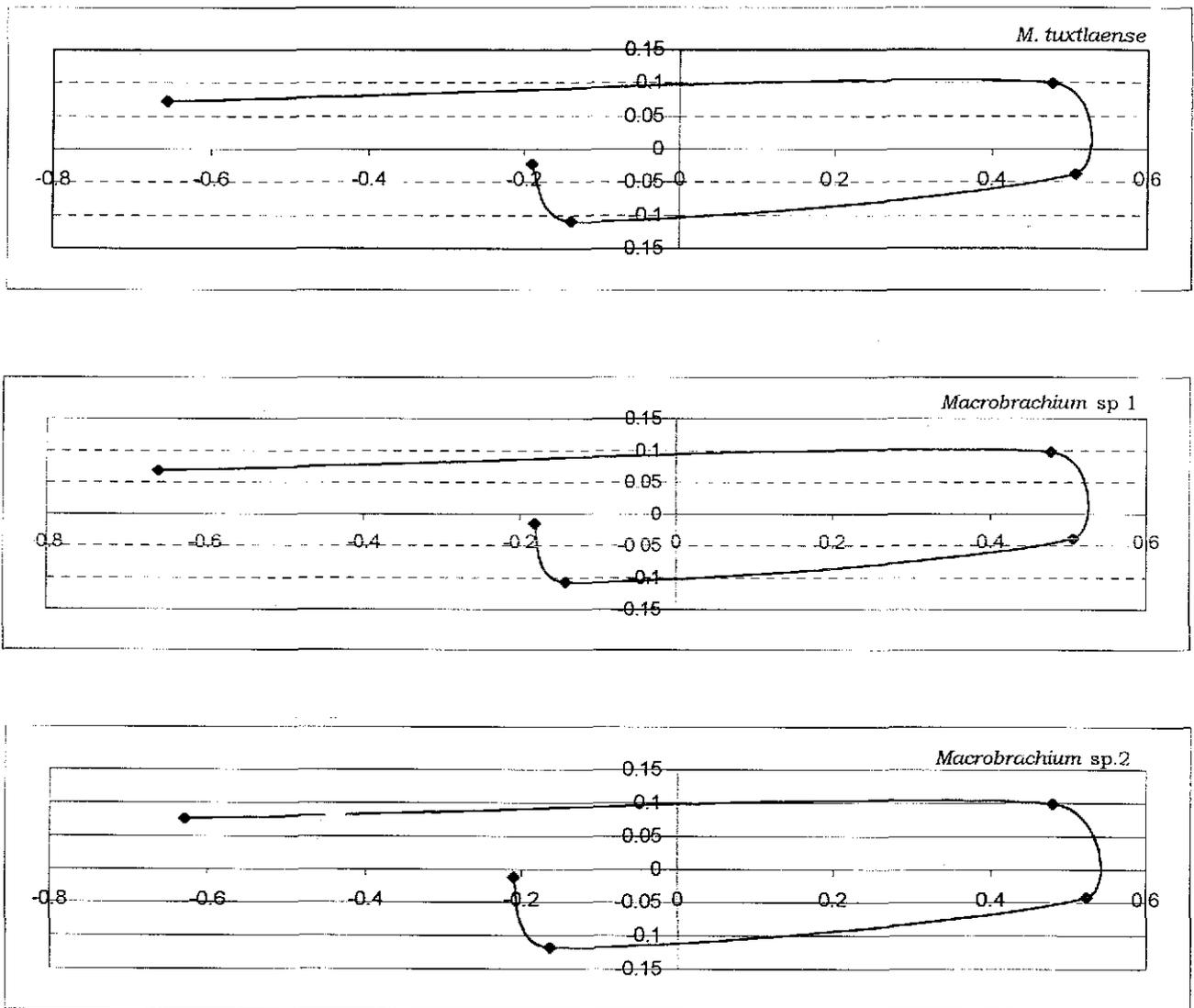


Fig. 33b. Forma consenso de la quela, sin dedo móvil, de las tres poblaciones de *Macrobrachium* spp. con desarrollo abreviado (Línea curva).

4. Discusión

La clasificación taxonómica de las especies del género *Macrobrachium* está basada completamente en características generales de la palma, el carpo y el rostro (Holthuis, 1952; Villalobos, 1967). Caracteres que con el incremento del número de especies muchas veces no son lo suficientemente robustos, para diferenciar certeramente a los taxa. Esto, en gran medida, se debe a la similitud morfológica y al incompleto conocimiento de la variación de los caracteres dentro de cada especie. Por ejemplo *M. olfersii* y *M. hobbsi*; a la variación ontogénica, a la variación dependiente del sexo y del estado de desarrollo, al ambiente y a su propia distribución geográfica.

En las nuevas poblaciones de *Macrobrachium*, con desarrollo abreviado, el problema es más apremiante, ya que al ser organismos pequeños que a primera vista pareciera que todos son iguales.

En este estudio se consideraron 37 caracteres entre los que se incluyen los comúnmente utilizados en la literatura, y otros que surgen de la observación de muchos ejemplares y en los que se podría pensar que presentan diferencias como son: las longitudes de las espinas hepáticas y antenales y la distancia entre la base de estas estructuras y puntos de referencia claros que no lleven a error, y registrar las mediciones del largo como el alto y ancho de los artejos. De los caracteres medidos se establecieron doce proporciones, que reflejan la misma tendencia de los caracteres por sí solos, algunas de ellos marcando diferencias significativas y corroborando el resultado de que la variación en tallas no es significativa para considerarla "ruido" estadístico por alometría de los caracteres.

Los valores más altos de coeficientes de variación tanto en ejemplares machos como hembras, de cada población, coincidieron en ser mediciones relacionadas al isquio. La explicación a ello pudiera ser que el isquio, y por ende todo el segundo pereiópodo, se unen al cefalotórax mediante una frágil articulación de la coxa. Esta articulación tiende a romperse con mucha

facilidad quedando poco definida la terminación de la estructura y por ende el largo, ancho y alto del isquio. Esta posibilidad se ve reflejada en el análisis, en la determinación del error de medición, donde los datos relacionados al isquio son los mayores valores de error.

Los ejemplares hembras de las tres poblaciones presentan coeficientes de variación menores y más constantes que en los machos. Pero, las hembras de cada población están menos diferenciadas, morfológicamente que las poblaciones de machos. Esto puede atribuirse al efecto de selección sexual, pensando en que la diferenciación en inversión parental implica un mayor gasto de energía por parte de las hembras, la mayor veces de los casos, partiendo desde la producción de gametos, cópula, cuidado de huevos o embriones y cuidado y alimentación de embriones, larvas y juveniles. Pero, también se ha visto que son las hembras las que seleccionan al macho que las va a fecundar.

Por otro lado, son los machos quienes presentan un mayor desarrollo de sus estructuras secundarias para atraer a las hembras, por lo que nuestros resultados concuerdan al encontrar una mayor variabilidad morfológica en los machos dentro y entre las poblaciones.

Según Darwin, el comportamiento de selección sexual de las hembras, a las que llamó "recatadas", era el de seleccionar a los machos a los que llamó "entusiastas", porque debían competir por el apareamiento con una hembra. A nivel de escala zoológica, son muchos los ejemplos de machos que destacan sus estructuras secundarias con la finalidad de atraer a las hembras, por ejemplo: cuernos y astas grandes y ornamentados, plumajes vistosos, cantos y movimientos de cortejo, aparato reproductor ornamentado. En el caso de los langostinos, se ha observado que hay: dimorfismo sexual, que los machos son de mayor tamaño y presentan mayor desarrollo de sus quelas. Particularmente, los machos tienen un comportamiento diferente entre juveniles y adultos. Los machos juveniles son más activos y copulan con todas las hembras que les es posible. Los machos adultos o alfa, son territorialistas y cuidan el harem dentro del mismo, tienen estrategias de selección sexual como es quitarles el

espermatóforo a los machos jóvenes de la espermateca de la hembra y depositar el suyo. También, secretan una hormona que inhibe el crecimiento del resto de los machos dentro del territorio (Eberhard, W., 1985 y Malte, 1994).

El análisis de variación entre poblaciones, mediante componentes principales, justifica un 77% de la varianza, la cual está explicada, principalmente, con caracteres relacionados con el alto, ancho y largo del segundo pereiópodo, el segundo componente involucra solo a componentes relacionados con el cefalotórax pero aún así, la gráfica no revela nubes de puntos definidas que distingan a cada población. Si a los mismos datos se les aplica un análisis discriminante con mayor resolución en la mezcla de los caracteres, éste permitirá graficar nubes de datos independientes con diferencias significativas para cada población.

Es común encontrar referencias bibliográficas en las que se concluye que mediante ensayos isoenzimáticos se revelan diferencias significativas entre poblaciones; sin embargo, los ejemplares son similares morfológicamente (Abdullah & Shukor, 1993) o con poca diferenciación morfológica (Armada, 1993). Estos resultados muchas veces confunden ya que se tiende a pensar que "algo" es genéticamente distinto. Pero no hay que perder de vista que la parte del genoma que se relaciona con el fenotipo (morfología) está dada por los genes reguladores y la variabilidad de los loci enzimáticos depende del comportamiento de los genes estructurales.

Los distintos valores de heterosis encontrados en diversos estudios, se han relacionado con la variabilidad morfológica y se plantea que los animales con menor variabilidad morfológica, presentan mayor heterocigosidad y por tanto mayor homeostasis (Espinosa, 1989; Fevolden y Hensen, 1989). Zourus y Foltz (1987), plantean que la variación alélica sugiere que los individuos heterócigos presentan niveles más bajos de fluctuación asimétrica y variación morfológica que los ejemplares homócigos. Una explicación para la asociación entre heterocigosidad y asimetría, es que los heterócigos se desarrollan más rápidamente que los homócigos y son menos propensos a accidentes durante la ontogenia.

En nuestro caso, se encontró que la población de *Macrobrachium* sp. 2, presenta menor variación morfológica que la población de *Macrobrachium* sp. 1 y éstas 2 menor variación morfológica que la población de *M. tuxtlaense*. En cuanto a la variación genética, medida como heterocigosidad, se observó el caso contrario. La población de *Macrobrachium* sp. 2 presenta mayor heterosis que la de *M. tuxtlaense* y éstas 2 presentan mayor variación en heterosis que la población de *Macrobrachium* sp. 1, concordando con la regla que a menor variación morfológica hay una mayor heterocigosidad y por ende mayor homeostasis.

El fenograma de la figura 22, hecha a partir de caracteres morfométricos, grafica en forma clara la agrupación de las poblaciones de *M. acanthurus* como poblaciones de una misma especie. Si las poblaciones de desarrollo abreviado correspondieran también a poblaciones de una misma especie sería razonable esperar que al agruparlas, según su semejanza morfométrica, se comportaran en forma similar a *M. acanthurus*.

Finalmente en relación a la técnica no convencional que se utilizó para la toma de datos, mediante la digitalización del caparazón y segundo pereiópodo mayor, resta por mencionar que es una eficiente herramienta para formar bases de datos. Permite un trabajo rápido y con mayor precisión de la que podría ofrecer un vernier o un ocular graduado. Además de ofrecer una rápida repetibilidad de las mediciones. Del programa Thin Plate Splines, Relative Warps (Rohlf, 1999), se puede señalar que es una técnica con la que se pueden lograr distintos enfoques de comparación, de la forma consenso, de las poblaciones independientemente del factor talla. En esta ocasión se presentó un ensayo muy simple de comparación angular entre estructuras de las formas consenso de cada población, lo que ha permitido confirmar que la inclinación del rostro de la población de *Macrobrachium* sp. 1, es menor de la que presentan las otras poblaciones analizadas.

Discusión Final

Pereira (1995) menciona que alrededor de 29 especies de palaemónidos de agua dulce en América del Sur presentan hembras que portan pocos huevos grandes, provistos de suficiente vitelo, lo que sugiere un desarrollo larval abreviado. Especies con desarrollo abreviado son originadas en las riveras tropicales y subtropicales alrededor del mundo. El autor argumenta que ya que palaemonidos primitivos como los Euryrhynchidae, *Troglomexicanus*, *Palaemonetes* primitivo y *Pseudopalaemon* (ver Strenth 1976, Pereira 1985) poseen desarrollo abreviado, esta característica puede ser considerada entonces una peculiarmente primitiva. Si este es el caso, el desarrollo abreviado surge debido a eventos evolutivos que tienen lugar temprano en el origen de la familia Palaemonidae, esta propuesta es consistente con la actual distribución de las especies con desarrollo abreviado alrededor del mundo, habitantes de grandes cuencas con una larga historia geológica.

En América del Sur la mayoría de las especies están asociadas con la rivera del Amazonas-Orinoco, cuencas que poseen una gran y compleja historia paleogeográfica. Si el desarrollo abreviado es relacionado con el origen de la familia, probablemente durante el tiempo Cretácico, entonces es común que el origen de los palaemónidos estrictamente de agua dulce pueda ser explicado con base en un solo evento de especiación más que por una convergencia debida a presión de selección (Pereira y Garcia, 1995). Pereira no hace referencia de cómo se daría el origen de este grupo de desarrollo abreviado inicial y cómo surgirían las especies de desarrollo completo que actualmente conocemos. Villalobos com. pers. en el afán de entender la propuesta de Pereira y Garcia (1995). propone dos procesos de invasión de las especies con desarrollo abreviado: el primero durante el periodo Cretácico, donde las especies de desarrollo abreviado originarían a las especies de desarrollo completo y por alguna razón desaparecerían; y segundo, que posteriormente habría una segunda invasión de las especies de desarrollo abreviado que serían las que actualmente conocemos. evidentemente con un origen más reciente.

Sin embargo son muchos los autores, que contrariamente plantean que los palaemónidos son de origen muy reciente y su dispersión, a partir de sus ancestros marinos pudo haberse iniciado durante el Pleistoceno o Postmioceno. Pero la ocupación de los medios dulceacuícolas, al menos, para las especies de *Macrobrachium* es más reciente aún, en el Mioceno (Villalobos 1982, Magalhaes y Walker, 1988; Mashiko, 1992; Shokita 1979 a, b;). Magalhaes y Walker (1988) sugieren que el origen de las formas de desarrollo abreviado es una condición derivada, una convergencia múltiple, intergenérica y masiva hacia este tipo de ciclo de vida en los Palaemonidos, principalmente por la presión de selección a vivir en aguas pobres en plancton. En general los palaemonidos parecen estar recientemente emergiendo del medio marino original y estar en el proceso de intrusión al medio dulceacuícola (Ortman, 1902; Tiwari, 1955 a). Este proceso de transición parecer ocurrir vía estuarina (Sandifer y Smith, 1979).

En esta dispersión biogeográfica e invasión a ambientes terrestres, el género *Macrobrachium* ha ido incrementando el tamaño del huevo y decreciendo el tamaño de la puesta como así mismo se han ido desarrollando varios tipos de desarrollo larval (Ortman , 1902; Tiwari, 1955 a y Jaalihal 1993). Basado en el número de estados larvales, Jalihal, 1976 propone tres tipos de desarrollo:

Tipo I : Prolongado, normal o completo que se subdivide en *Tipo IA*: con más de diez estados larvales y el *Tipo IB*: con ocho o nueve estados larvales.

Tipo II : Parcialmente abreviado que se subdivide en *Tipo IIA*: con tres estados larvales y en el *Tipo IIB*: con dos estados larvales.

Tipo III : con desarrollo completamente abreviado.

Macrobrachium nipponense se incluye dentro del primer

Rioja (1943), presenta un ensayo particularmente interesante referente a la inestabilidad e intercambio de las faunas marinas, dulceacuícolas y terrestres en los dominios biogeográficos continuos. Planteando que los euribiontes que están en la fase de ampliar su área de distribución biogeográfica, o de invadir nuevas áreas, están dotados de mecanismos orgánicos peculiares y favorables para hacerlo. Este tipo de organismos capaces de invadir, colonizar, adaptarse y actuaren un medio ambiente nuevo, están dotados de condiciones a las que el

para hacerlo. Este tipo de organismos capaces de invadir, colonizar, adaptarse y actuaren un medio ambiente nuevo, están dotados de condiciones a las que el llama preadaptaciones. Por ejemplo los organismos que viven en aguas dulces presentan un carácter de adaptación convergente, como es la presencia de huevos grandes bien dotados de vitelo, como los que presentan algunos palemónidos de agua dulce.

Según Jalihal *et al.*,(1993)el género *Macrobrachium* durante el proceso de invasión al medio terrestre, adquiere algunas interesantes características como: (1) reducción del tamaño de los adultos con pérdida del dimorfismo sexual, (2) aumento del tamaño del huevo y reducción del tamaño de la puesta, (3) larvas de gran tamaño con pereiópodos funcionales y pleópodos, (4) rostro dentado. (5) telson redondeado con incremento en el número de procesos, (6) ausencia de espina supraorbital como de espina epigástrica o posterolateral en el caparazón y de la espina en el quinto segmento abdominal durante el desarrollo larvario, (7) algunos dependen de la salinidad para la metamorfosis; (8) reducción del número de estados larvales y de la duración del periodo larval (9) incremento en el porcentaje de sobrevivencia larval.

Particularmente, pienso que el desarrollo abreviado es una condición derivada del desarrollo larvario completo, como resultado de una adaptación al medio ambiente favorecida por la plasticidad adaptativa de los organismos. Probablemente, pueda ser una respuesta a la presión de selección por establecerse en ambiente oligotróficos asegurando el éxito reproductivo y evitando la exclusión competitiva. Pero sin duda nada de esto se puede afirmar sin tener una buena filogenia, un reloj molecular e historias de vida que establezcan el origen primero del grupo *Macrobrachium*.

Estas nuevas poblaciones, de desarrollo abreviado, del género *Macrobrachium* tanto para México y América Norte, son particularmente interesantes desde el aspecto biogeográfico, ya que la historia geológica de México es distinta y mucho más reciente que la del Amazonas, así como por las adaptaciones que presentan estos organismos para lograr existir donde lo hacen, por ejemplo: su especialización en un habitat dulceacuícola; reducen su rango

geográfico (dando pie al endemismo); adquieren una independencia nutricional debida a la presencia de pocos huevos de gran tamaño provistos de suficiente vitelo; abrevian el desarrollo larvario; dando protección a la camada ; las larvas presentan tolerancia al estrés físico-químico, entre otros. Las adaptaciones anteriores son similares a las que plantea Anger (1995), para algunos cangrejos grápsidos que se mueven del ambiente marino al dulceacuícola y al terrestre, este tipo de conducta también se ha observado en crustáceos Cambáridos, Pseudothelphusidos y Tricodaytilidos Villalobos *com. pers.*

De este modo, las especies del género *Macrobrachium* se han ido independizando del medio salino para ir colonizando aguas oligotróficas, contrarestando la carencia de alimento con la producción de huevos con suficiente vitelo para alimentar a una larva lecitotrófica hasta que sea librenadante y con estructuras bucales funcionales. Sin duda esto lleva consigo un período de transición y adaptaciones fisiológicas, morfológicas y ecológicas-conductuales.

Una de las de las adaptaciones fisiológicas más importantes es la que implica pasar de ser estrategia r (en su forma reproductiva) a ser estrategias K. Pensando ahora que el tipo de estrategia reproductiva r es la que presentan la mayoría de los crustáceos decápodos, se podría considerar como la estrategia más exitosa, pero no necesariamente la de origen primero. Sin embargo también es válido pensar que las poblaciones de langostinos de desarrollo abreviado (con huevos grandes) están recién encontrándose y en algún momento podría ser que este tipo de estrategia fuese el más exitoso en función de fitness reproductivo. Un antecedente para pensar en esto es que en el año 1998, cuando se inició este estudio, se conocían cinco poblaciones con dichas características y tres años más tarde se tienen reportes de a lo menos 18 poblaciones con similares características para las que se postula la misma interrogante ¿Son 18 poblaciones de una única especie de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado?, ¿Son poblaciones en proceso de especiación? o ¿Son distintas especies de *Macrobrachium* spp. que están evolucionando en forma independiente?.

Los principales resultados obtenidos, en cada una de las tres aproximaciones se resumieron en un análisis de parsimonia, el cual generó un fenograma para cada una de ellas (Figuras: 9, 22 y 31). Al reunir los caracteres de presencia/ausencia de alelos (Tabla V), características del apéndice masculino (Tabla XVI) y los caracteres morfométricos (Tabla XXII) para cada población una de las siete poblaciones estudiadas como valores de presencia/ausencia de caracteres se obtuvo una gran matriz de (7 x 163). A partir de esta y mediante el método de parsimonia con un bootstrap de 100 replicas se generó un fenograma exactamente igual al obtenido utilizando solo los caracteres morfométricos (Figura 31).

Por el momento, puedo concluir que se ha obtenido evidencia genética, de ultraestructura y morfométrica para afirmar que las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 , se pueden tratar como especies distintas.

Conclusiones

1. Mediante la técnica de electroforésis en acetatos de celulosa, se determinó que la población de *Macrobrachium* sp. 1 presenta cuatro alelos fijos (el alelo dos de la Mdh-1 y de la Me-1, el alelo uno de la Pgi-1 y el alelo cuatro de lo Got-1). La población de *Macrobrachium* sp.2 está fija para el alelo dos de la Me-1 y Got-1. La población de *Macrobrachium tuxtlaense* no presenta alelos fijos. (Objetivo 1; Capítulo I).
2. Mediante la técnica de electroforesis en acetatos de celulosa, se determinó que las cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus* están fijas para el alelo tres en la Me-1 y el alelo dos en la Idh-1. Las poblaciones de Alvarado y Tabasco están fijas para el alelo dos de la Pgi-1, las poblaciones de Sontecomapan y Tabasco están fijas para el alelo dos de la Got-1. (Objetivo 1; Capítulo I).
3. Las siete poblaciones del género *Macrobrachium* estudiadas presentan altos niveles de heterosis (comparado con lo reportado en la literatura para otras especies del género), especialmente, la población de *Macrobrachium tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2. Sin dejar de mencionar que la heterosis calculada, en este estudio, está basada en un alto porcentaje de locus polimórficos, especialmente para *Macrobrachium* sp.2 que es polimórfica para todos los loci analizados. (Objetivo 2; capítulo I).
4. El índice de diferenciación entre poblaciones (F_{st}) para las tres poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado, indica que se pueden tratar como especies distintas genéticamente. (Objetivo 4; Capítulo I).

5. El índice de diferenciación entre poblaciones F_{st} para las cuatro poblaciones de *Macrobrachium acanthurus* indica que genéticamente son poblaciones de una misma especie. (Objetivo 4; Capítulo I).
6. El índice de fijación (F) y los estadísticos de Wright (F_{is} , F_{st} y F_{it}), indican que las poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado, están bajo la influencia de fuerzas evolutivas como la endogamia, deriva génica y la selección natural. (Objetivo 3; Capítulo I).
7. Los valores de distancia genética (D) para las tres poblaciones de *Macrobrachium* de desarrollo abreviado, indican que se pueden tratar como especies distintas genéticamente. (Objetivo 5; Capítulo I).
8. Las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2. están distantes geográfica y genéticamente.
9. Los resultados obtenidos para presencia / ausencia de alelos, Distancia genética e índice F_{st} , indican que las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense*, *Macrobrachium* sp.1 y *Macrobrachium* sp. 2, se pueden tratar como especies genéticamente distintas que están evolucionando de manera independiente.
10. Mediante el análisis de ultraestructura de las cerdas apicales del apéndice masculino, en las poblaciones de *Macrobrachium* estudiadas, se puede determinar que el número de cerdas es un carácter categórico, constante y especie-específico. (Objetivo 1, Capítulo II)
11. El número de cerdas apicales en el apéndice masculino, es de cuatro para machos de *Macrobrachium tuxtlaense*; tres para machos de *Macrobrachium* sp. 1 y de cinco para machos de *Macrobrachium* sp. 2. (Objetivo 2; Capítulo II).

12. El número de cerdas apicales en el apéndice masculino para machos de *Macrobrachium acanthurus* es de seis en las cuatro poblaciones analizadas. (Objetivo 2; Capítulo II).
13. La medición de estructuras mediante la técnica no convencional de programas computacionales (Morphosys) y a partir de la digitalización de imágenes de video resultó tener un confiable nivel de precisión. (Objetivos 1 y 2; Capítulo III).
14. Las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 1 se diferencian significativamente en 20 de los 37 caracteres morfométricos estudiados.
15. Las poblaciones de *Macrobrachium tuxtlaense* y *Macrobrachium* sp. 2 se diferencian significativamente en 12 de los 37 caracteres morfométricos estudiados.
16. Las poblaciones de *Macrobrachium* sp. 1 y *Macrobrachium* sp. 2 se diferencian significativamente en 6 de los 37 caracteres estudiados.
17. Los resultados del análisis de componentes principales y discriminante indican que las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado, están diferenciadas por sitio. (Objetivo 3; Capítulo III).
18. Los resultados del análisis de componentes principales y discriminante indican que las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado, están diferenciadas por sexo intra e interpoblacionalmente. (Objetivo 3; Capítulo III).

19. Hay evidencia genética, de ultraestructura y morfométrica para afirmar que las tres poblaciones de *Macrobrachium* con desarrollo abreviado son especies distintas.

20. Se reporta a *Macrobrachium* sp.1 y *Macrobrachium* sp. 2 como dos nuevas especies del género *Macrobrachium*, epigeas con desarrollo abreviado y endémicas para México.

Referencias

- Abdullah, R. and N. Strukov. 1993.** Isozyme variation between two closely related species *Grangnon grangnon* (L.) and *Grangnon allmani* Kinahan (Decapoda:Caricidea). *Crustaceana* 64 (1): 115-121.
- Acquaah, G. 1992.** Practical Protein Electrophoresis for Genetic Research. Langston University, Langston, Oklahoma.131 pag.
- Allendorf, F. W. 1983.** Isolation, gene flow and genetic differentiation among populations. pp: 51- 65. In:Schonewald – C. Cox, C.M., S. Chamber, B. MacBrydde & W.L. Thomaas (eds.). Genetics and Conservacion. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- Alvarez, F. & J. L. Villalobos. 1997.** *Pseudothelphusa ayutlaensis*, a new species of freshwater crab (Crustacea: Brachyura: Pseudothelphusidae) from México. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 110: 388-392.
- Armada, A. N. 1993.** Differentiation of the Palaemonid shrimp, *Macrobrachium nipponense* in Japanese Islands. Tesis Doctoral.
- Ayala, F. J., & J. Kiger. 1984.** Genética Moderna. Barcelona. Edic. Omega. 836 pp.
- Avise, J. C. 1994.** Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, NY.
- Bailey, R. & J. Byrnes. 1990.** A new, old method for assessing measurement error in both univariate and multivariate morphometric studies. *Syst. Zool.* 39 (2):124-130.
- Barbour, C. D & B. Chernoff . 1984.** Comparative morphology and morphometrics of the pescados blancos (genus *Chirostoma*) from lake Chapala , México, p. 111-127. In: A.A Echelle, I. Kornfield eds. *Evolution of Fish Species Flocks*. Univ. Maine Press Toronto.
- Beninger, P. y Poussart. 1991.** Gonopods of the Majid Crab *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius). *Journal of Crustacean Biology*, 11(2): 217-228.
- Bookstein, L. 1982.** Foundations of morphometrics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13:451-470.
- Bueno, S. L. de S. and S. de Almeida, 1995.** Abbreviated larval development of the freshwater prawn, *Macrobrachium iherengi* (Ortmann, 1897)

(Decapoda:Palaemonidae), reared in the laboratory. *Crustaceana*, 68(6): 665-686.

Camacho, M; F. Alvarez y J. L. Villalobos. 1997. Palaemonidae. In: E. González; R. Dirzo y R. Vogt (Eds.), *Historia Natural de Los Tuxtlas*: 411 - 414 pag. (Instituto de Biología, U.N.A.M.).

Cantú, A., F. Eccardi, E. Lira, J. Ramírez, M. Serrato y A. Zavala. 1991. México diverso, un encuentro con su naturaleza. ISSSTE, México. 254pp.

Castañeda, A. 1996. Estructura y variación genética en el complejo "Jethys" (Lepidoptera: Papilionoidea; Enantia) en México. Tesis Doctoral, Instituto de Ecología U.N.A.M.

Castello, V. 1983. Utilización de técnicas multivariadas en el estudio de la morfología de una población de barbos (*Barbus barbus aelateri* G)(Pisces: Ciprinidae) en el Sur de España. *Historia Natural* 3(1): 1-15.

Chace, F y A. Bruce. 1993. The caridean shimps (Crustacea: Decapoda) of the Albatros Philippine Expedition 1907-1910, part 6: superfamily Palaemonoidea. *Smithsonian Contribution. Zool.* 543, p 1-152.

Defaye, D., C. Cuoc & Brunet, M. 2000. Genital structures and spermatophore placement in female paradiaptominae (Copepoda: Calanoida: Diaptomidae). *Journal of Crustacean Biology.* 20 (2): 245-261

D'Amato, M. E. & D. Corach. 1996. Genetic diversity of populations of the fresh water shrimp *Macrobrachium borelli* (Caridea:Palaemonidae) evaluated by RAPD analysis. *Journal of Crustacean Biology.* 16(4): 650-655.

Dall, W., B. J. Hill, & D. J. Staples. 1990. The biology of the Penaeidae. *Advances in Marine Biology* 27:1 - 489.

Eberhard , W. 1985. *Sexual Selection and Animal Genitalia.*Harvad University Press Cambridge Massachusetts and London, England. 244 pag.

Eguiarte, L. E. 1986. Una guía para principiantes a la Genética de Poblaciones. Ciencias N°

Eguiarte, L. E. 1990. Genética de poblaciones *Austrocaryum mexicanum* Liebm. en los Tuxtlas, Veracruz. Tesis Doctoral. UNAM. 190 pag.

Eguiarte, L. .E y D. Piñero. 1990. Genética de la conservación: Leones vemos, genes no sabemos. *Ciencias. Número especial* 4: 34 - 47.

Eknath, E., J. Macaranas., L. Agustion., R. Velasco., M. Alban., M. Pante & R. Pullin. 1991. Biochemical and morphometric approaches to characterize farmed tilapias. The ICLARM Quaterly, 14(2): 7-9.

Espinosa, G. 1989. Genética bioquímica y morfometría del camarón blanco *Penaeus schimitti* de Cuba. Resultados preliminares. Rev. Ins. Mar. La Habana. V. 10, No. 2, 157-162.

Feldenhauer, B. E. 1987. Techniques for preparing crustaceans for scanning electron microscopy. Journal of Crustacean Biology, 7(1): 71 - 76.

Fevolden, S.E. y Hessen, D. A. 1989. Morphological and genetic differences among recently founded populations of notable crayfish (*A. astacus*). Heredias, Vol. 110, 149-158.

Flemming, L. 1969. Use of male external genitalic details as taxonomic characters in species of Palaemonetes (Decapoda, Palaemonidae)., Proceeding of the Biological Society of Washigton 82: 443 - 452.

Futuyama, D. J. 1998. Evolution. Tercera edición, Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts.

Gillespie, J. H. and C. H. Langley. 1974. A general model to account for enzyme variation in natural populations. Genetics, V. 76: 837-848.

Gillespie, J. 1991. The causes of molecular evolution. Oxford University Press, New York. 336 pag.

Hartl, D. & A. G. Clarck. 1989. 2nd ed. Sinauer, Suderland, Massachussetts. 682 pp.

Hedgecock, D. 1979. Biochemical genetic variation and evidence of speciation in *Chtamalus* barnacles of the tropical eastern Pacific Ocean. Mar. Biol. 54:207-214.

Hedgecock, D., K. Nelson, J. Simons, & R. Shleser. 1977. Genetic similarity of American and European species of the lobster *Homarus*. Biol. Bull. 152: 41-50.

Hedgecock, D., M. L. Tracey & K. Nelson. 1982. Genetics. In: D. E. Bliss (ed.) The Biology of Crustacea. Vol 2. L. G. Abele, ed. Embryology, morphology and genetics, pp. 283-403. Academic Press, New York, New York.

Hedrick, 1983. Genetics of populations. Science Books Int., Boston.

Helena Laboratories. 1993. Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis. 32 pag..

Herbert, P. & Beaton. 1993. Cellulose acetate gel electrophoresis. Helena Laboratories., Beumont Texas.

Hillis, D. M. 1984. Misuse and modification of Nei's genetics distance. *Systematic Zoologi* 33: 238-240 pp.

Hillis, D. y C. Moritz. (eds) 1990. Molecular Systematics. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.

Hobbs, H. H. 1973. Three new troglobitic decapod crustaceans from Oaxaca. *Assoc. Mex. Cave Studies Bull.* 5: 25-38, 8 figs.

Holthuis, L. 1952. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea: Decapoda: Natantia) of the Americans. II. The subfamily Palaemoninae. *Allan Hancock Occasional Paper* 12: 1-396

Holthuis, L. B. 1977. Cave shrimps (Crustacea: Decapoda: Natantia) from Mexico. *Academia Nazionale dei Scienze* 171: 173-195.

Holthuis, L. 1993. The recent genera of the caridean and stenopodidean shrimps (Crustacea: Decapoda). *National Naturhistorisch Museum, Leiden.*, 328 pp.

Holtschmit, K. H. 1988. Langostino. Manual Técnico para el cultivo y engorda del Langostino Malayo. Fideicomiso Fondo Nacional para el Desarrollo Pesquero. Secretaria de Pesca (Fondepesca). 127 pp.

Ikerla, M., A. Kijima and Y. Fujio. 1992. Genetic divergence between two subspecies in *Parutya compressa* (Decapoda: Atyidae). *Nippon suisan gakkaiishi.* 58(5): 819-824.

Jalihal, D. R., K. N. Sankolli and S. Shenoy. 1993. Evolution of larval development patterns and the process of freshwaterization in the prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda: Palaemonidae). *Crustaceana* 65: 365-376.

Lester, L. J. 1979. Population genetics of penaeid shrimp from the Gulf of Mexico. *Journal of Heredity* 70:17

Lewontin, I. and Hubby, J. 1966. A molecular approach to the study of fenic heterozygosity in natural populations. *genetics*, V. 54. 595-609.

- Li, C. & D. Horvitz. 1953.** Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *American Journal of Human Genetics* 5: 107 - 117.
- Libosvárky, J. & J. Kux. 1982.** Multivariate analysis of morphometric characters in the genus *Gobio*. *Folia Zool.* 31: 83-92.
- Magalhaes, C. & I. Walker. 1988.** Larval development and ecology distribution of central Amazonian palaemonid shrimps (Decapoda: Caradea) *Crustaceana* 55: 279 - 292.
- Malte, A. 1994.** Sexual Selection Monographs in Behavior and Ecology. In: Krebs and Clutton-Brock eds. 599 pag.
- Manly, B. 1986.** *Multivariate Statistical Methods. A primer.* Chapman y Hall, U. S. A. 159 pag.
- Mashiko, K. 1992.** Genetic egg and clutch size variations in freshwater prawn populations. *Oikos* 63: 454-458.
- Market, C. y F. Moller. 1959.** Multiple forms of enzymes: Tissues, cytogenic and species specific patterns. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 45: 753- 763.
- Mayr, E. 1946.** Inference concerning Tertiary American Bird Faunas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 51: 28-288.
- Miller, M. 1998.** Tools for Population genetic analysis. Department of Biological sciences. Northern Arizona University, Flagstaff, Arizona.
- Mitton, J. & M. C. Grant. 1984.** Associations among protein heterozygosity, growth rate, and developmental homeostasis. *Aann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 479-499.
- Molina, J.D. 1992.** Introducción a la genética de poblaciones y cuantitativa. AGT Editor S.A. 349 pp.
- Molvary, M., P. Kores & S. Darwin. 1993.** Inexpensive digital data acquisition for morphometric study. *Taxon* (42): 393 - 397.
- Mulley, J & B, Later. 1981.** Genetic variation and evolutionary relationship within a group of certain species of penaeid prawns. *Evol.* 34 (5): 904 - 916 pp.
- Murphy, R., J. Sites, Jr. Donald, G. Buth & C. Haugler. 1990.** Proteins I: Isozyme electrophoresis. 45 - 126 pag. In: D. M. Hillis & C. Moritz (eds.) *Molecular Systematics.* Sinauer Associates, Inc., Sunderland Massachusetts.
- Nei, M. 1972.** Genetic distance between population. *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.

Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. 512 pp.

Nelson, K. and Hedgecock, D. 1986. Enzyme polymorphism and adaptive strategy in the decapod crustacea. *The Amer. Nat.*, V. 116, N 2, 238-280.

Nevo, E. A. Beiles and R. Ben-Shlomo. 1984. The evolutionary significance of genetic diversity, ecological, demographic and life history correlates. *Evolutionary Dynamics of Genetic Diversity. Lecture Notes in Biomathematics*, 53: 13-312.

Ortmann, A. E. 1902. The geographical distribution of freshwater decapods and its bearing upon ancient geography. *Proc. Amer. Philos. Soc.* 41 (171): 261-401, figs 1-8.

Pereira, 1985. Freshwater shrimps from Venezuela. III: *Macrobrachium quelchi* (DeMan) and *Euryrhynchus pemoni* n. sp. (Crustacea:Decapoda:Palaemonidae) from La Gran Sabana. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 98: 615-621.

Pereira, G. 1986. Freshwater shrimps from Venezuela. I. Seven new species of Palaemoninae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 99: 198-213.

Pereira, G. 1993. A description of a new species of *Macrobrachium* from Perú, and distributional records for *Macrobrachium brasiliense* (Heller) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 106 (2): 339-345.

Pereira, G. & J. García. 1995. Larval development of *Macrobrachium reyesi* (Decapoda:Palaemonidae), with a discussion on the origin of abbreviated development in palaemonids. *Journal of Crustacean Biology* 15(1):117-133.

Phillips & Macmillan. 1987. Antenal receptors in puerulus and postpuerulus stages of the Lobster *Panulirus cygnus* (Decapoda: Palinuridae) and their potential role in puerulus navigation. *Journal of Crustacean Biology*, 7 (1): 122 - 135.

Richardson, B. J., P. R. Baverstock & M. Adams. 1986. *Allozyme electrophoresis. A Handbook for animal systematic and population studies.* Academic Press. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. 409 pp.

Rioja, E. 1943. La inestabilidad o intercambios de las faunas marinas, dulceacuícolas y terrestres en los dominios biogeográficos contiguos. Rev. Geográfica Tomo III, No. 7, 8 y 9.

Rojas, Y., F. Alvarez and J.L. Villalobos. 1999. A new species of crayfish of the genus *Procambarus* (Crustacea: Decapoda: Cambaridae) from Veracruz, México. Proceedings of the Biological Society of Washington 112(2): 396 - 404.

Rohlf, J. & D. Slike. 1990. Extensions of procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. Syst. Zool. 39 (1) 40 - 59.

Rohlf, J. & L. Marcus. 1993. A revolution in morphometrics. Tree. 8 (4): 129 - 132.

Román, R., L. Ortega and L. Mejía. 2000. *Macrobrachium vicconi*, new species, a fresh-water shrimp from a rain forest in southeast Mexico, and comparison with congeners (Decapoda:Palaemonidae). Journal of Crustacean Biology, 20(1):186-194.

Sanocimuang, L., G. Merugan, P. Weekers and H. Dumont. 2000. *Streptocephalus sirindhornae* new species of freshwater fairy shrimp (Anacostraca) from Thailand. Journal of Crustacean Biology , vol. 20 (3) 559 - 565.

Shokita, S. 1979 a. The distribution and speciation of the inland water shrimps and prawns from the Ryukyu Islands II. Bulletin of the College of Science, University of the Ryukyus 28: 193-278.

Shokita, S. 1979 b. Early life history of the genus *Macrobrachium* (Decapoda: Palaemonidae) Aguabiology 4:9-17.

Slatkin, M.1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science 236: 787 - 792.

Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. 4-17 pag. In: Real, L. A. (Ed.). Ecological genetics. Princeton University Press. New Jersey.

Sneath, P. & R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. W.H. Freeman. San Francisco.

Somers, K. 1986. Multivariate allometry and removal of size with principal components analysis. Syst. Zool. 35 (5): 359-368.

Strenth, N, 1976. A review of the systematics and zoogeography of the freshwater species of Palaemonetes (Heller) of North America (Crustacea:Decapoda). Smithsonian Contributions to Zoology 228: 1-27.

Strenth, N. 1994. A new species of Palaemonetes (Crustacea:Decapoda:Palaemonidae) from Northeastern Mexico. Proc. Biol. Soc. Wash. 107 (2): 291-295.

Swofford, D. L. 1990. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, version 3.0 Illinois Natl. Hist. Sur., Champaign, IL.

Swofford, D. and G. Olson 1990. Phylogeny reconstruction. En D. M. Hillis y C. Moritz (eds).

Tam, Y. K. & K. H. Chu. 1993. Electrophoretic study on the phylogenetic relationships of some species of *Penaeus* and *Metapenaeus* (Decapoda: Penaeidae) from the south China sea. Journal of Crustacea Biology 13(4): 697-705.

Teugeles, G and E. Vreven. 1998. Preliminary result on morphometric differentiation between natural population of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae). The ICLARM Quaterly, 14: 165-173.

Tiwari, K.K. 1955 a. Trend of evolution in the Hendersoni group of species of Palaemon Fabr. (Crustacea:Decapoda). Bulletin National Institute of Science of India 7: 189-197.

Toledo,V. 1988. La Diversidad biológica de México. Ciencia y Desarrollo, XVI (81): 17-30.

Tracey, M. L., K. Nelson, D. Hedgecock, R. A. Shlester, & M. L. Pressick. 1975. Biochemical genetics of lobsters: genetic variation and the structure of American lobsters (*Homarus americanus*) populations. J. Fish. Res. Board Can. 32:2091-2101.

Tsuchida, S. & K. Fujikura. 2000. Heterochely, relative growth and gonodop morphology in the Bythograeid crab, *Austinograea williamsi* (Decapoda:Brachyura). Journal of Crustacen Biology, 20 (2): 407-414.

Vásquez, G. y O. Echeverria. 2000. Introducción a la Microscopia Electrónica aplicada a las Ciencias Biológicas. Fondo de Cultura Económica. 168 pp.

Valentine, J. W. & F. J. Ayala. 1976. Genetic variation in Krill. Proc. Natl. Acad. Sci. 73: 658-66.

Villalobos, A. 1967 a. Problemas de especiación en América de un grupo de Palaemonidae del género *Macrobrachium*. Conferencia mundial de F.A.O. sobre Biología y cultivo de camarones y gomitas. F.A.O. Document FR: BCSP/67/E/62. 11 pp.

- Villalobos, A. 1982.** Decapoda. In: S. H. Hulbert and A. Villalobos-Figueroa (Eds.). Aquatic Biota of Mexico, Central America and West Indies. San Diego State University, San Diego, California, U. S. A. 215-239.
- Villalobos, A. & H. Hobbs. 1974.** Three New Crustaceans from La Media Luna, San Luis Potosí, Mexico. Smithsonian Contributions of Zoology. No. 174.
- Villalobos, J. L., A. Cantú & E. Lira. 1993.** Los Crustáceos de agua dulce de México. 267-290 p. In: R. Gío-Argaéz y E. López-Ochoterena (Eds.). Diversidad Biológica en México. Volumen Especial, Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural, XLIV: 1-457.
- Villalobos, J. L. & F. Alvarez. 1999.** *Macrobrachium tuxtlaense* (Crustacea:Decapoda:Palaemonidae), a new species of freshwater prawn with abbreviated development from Mexico. Proceedings of the Biological Society of Washington.
- Vreve, E., B. Adepo-Gourene., J. Agnese y G. Teugels. 1988.** Morphometric and allozyme variation in natural population and cultures strains of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Teleostei, Cichlidae). Belg. J. Zool. 128: 23-32 pp.
- Weir, B. S. and C.C. Cokerham. 1984.** Estimating F statistics for the analysis of populations structure. Evolution 38:1358-1370.
- Weeden, N.F and J.F. Wendel., 1989.** Genetics of plants isozimas pp. 46-72. In: D.E.Soltis and P.S. Soltis (Eds.) Isosymass plant biology Discocids Press. Portland.
- Wright, S. 1921.** Systems of mating, I-V. Genetics 6:111-178 pp.
- Wright, S. 1951.** The genetic structure of populations. Ann Eugenics. 15:322-354.
- Wright, S. 1968.** Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 1: Genetics and Biometric Foundations. University of Chicago Press, Chicago.
- Wright, S. 1965.** The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution 34(5): 856
- Wright, 1978.** Evolution and genetics of populations Vol.4 Variability within and among natural populations. University of Chicago press. Chicago.
- Workman, D & J. Niswander. 1970.** Population studies on southwestern Indian tribus II. Local genetic differentiation in the papago. American Journal of Human Genetics. 22: 24 - 49 pag.

Yezerinac, S., Lougheed, B. & P. Handford. 1992. Measurement error and morphometric studies, statistical power and observer experience. *Sys. Biol.* 41(4): 471 - 482.

Zourus, E. and Foltz, D. 1987. The use of alelic isozyme variation for the study of heterosis. *Isozymes: Current topics in biological and medical research.* V. 13. pp. 1-59.

ANEXO No. 1.

Recetas de los sistemas buffers utilizados en el análisis electroforético.

Buffers de extracción: agua destilada.

Buffers de corrimiento:

Buffer A

Citratos-fosfatos 0.01 M
pH: 6.4

Receta 1 (lt)

1.42 g Na_2HPO_4
0.53 g Ácido cítrico

Molaridad final

10 mM Na_2HPO_4
2.5 mM Ácido cítrico

Buffer K

Tris-Maleato 0.015 M
pH: 7.2

Receta 1 (lt)

1.82 g Tris
0.81 g Ácido maléico

Molaridad final

15mM Tris
7 mM Ácido maléico

Buffer C

Tris-maleato 0.05 M
pH: 7.8

Receta 1 (lt)

6.06 g Tris
2.32 g Ácido maléico

Molaridad final

50 mM Tris
20 mM Ácido maléico

Anexo No. 2.

Recetas de las enzimas utilizadas en el análisis electroforético.

ISOCITRATO DESHIDROGENASA (Idh) EC 1.1.142

1.0 ml Tris HCl pH: 7.0
1.5 ml NADP
15 gotas DL-ácido isocítrico
8 gotas MgCl₂
5 gotas de MTT
2 ml de agar

GLUTAMATO OXALACETATO TRANSAMINASA (Got) EC 2.6.1.1

3 ml solución No. 1
10 gotas fast blue BB salt (solución saturada)**
2 ml de agar
Solución No. 1
200 ml 0.1 M fosfato pH: 7.0
10 mg Pyridoxal 5-fosfato
460 mg ácido L-Aspártico
260 mg ácido α -Ketoglutárico
ajustar a pH: 7.4

FOSFOGLUCOSA ISOMERASA (Pgi) EC 5.3.1.9

1.0 ml Tris HCl pH: 8.0
1.5 ml NAD
5 gotas fructosa-6-fosfato
5 gotas MTT
5 gotas PMS**
10 ml G6pdh**
2 ml de agar

FOSFOGLUCOMUTASA (Pgm) EC 2.7.5.1

1.0 ml Tris HCl pH: 8.0
1.5 ml NAD
5 gotas MgCl₂
5 gotas glucosa-1-fosfato
5 gotas MTT
5 gotas PMS**
20 ml G6pdh**
2 ml de agar

GLUCOSA-6-DESHIDROGENASA (G6pdh) EC1.1.1.49

0.6 ml HCl pH: 8.0
1.5 ml NADP
12 gotas D-Glucosa-6-fosfato
6 gotas MgCl₂
5 gotas MTT
5 gotas PMS**
2 ml de agar

MALATO DESHIDROGENASA (Mdh) EC1.1.1.37

1.0 ml Tris HCl pH: 8.0
1.5 ml NAD
13 gotas de Sustrato Málico
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS**
2 ml de agar

Sustrato Málico

180 ml de agua
20 ml Tris HCl pH: 9.0
3.68 g L-ácido Málico
Ajustar a pH: 8.0

MALATO DESHIDROGENASA (Me) EC 1.1.1.40

0.6 ml Tris HCl pH: 8.0
1.5 ml NADP
12 gotas Sustrato Málico
2 gotas MgCl₂
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS**
2 ml de agar

MANOSA FOSFATO ISOMERASA (Mpi) EC 5.3.1.8

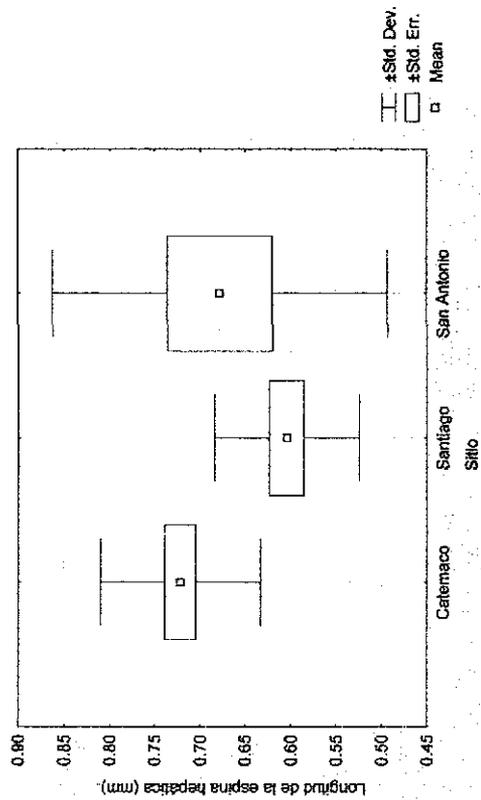
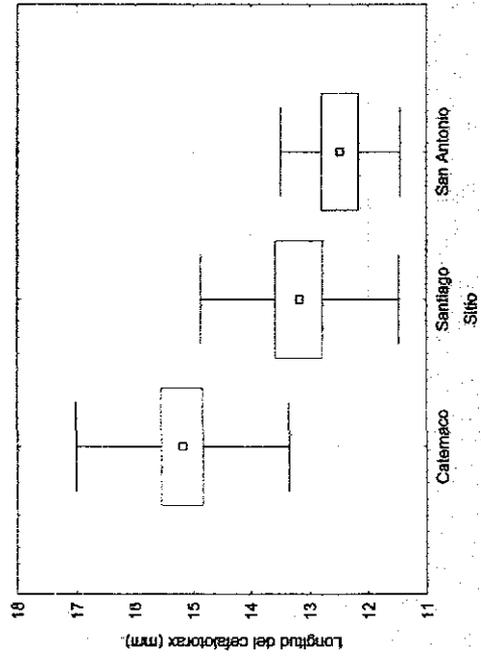
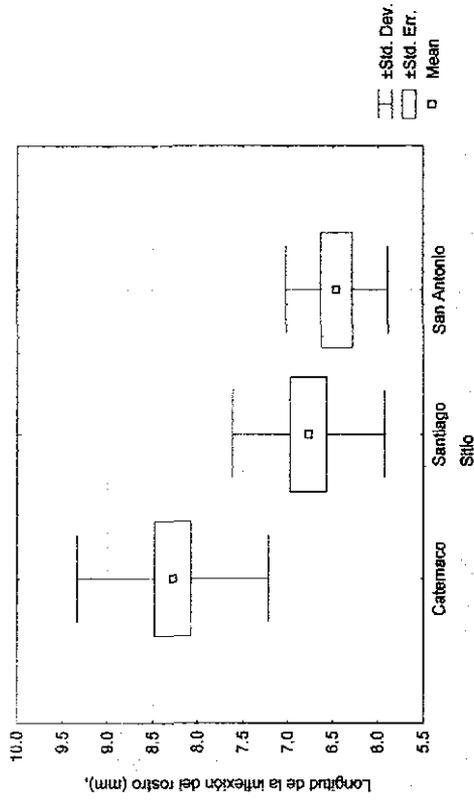
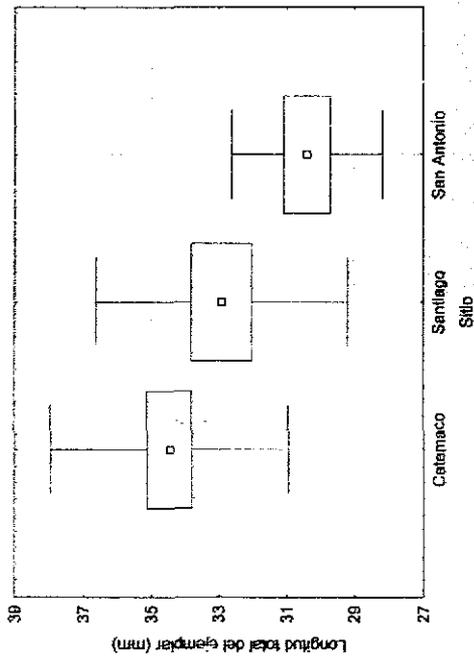
1.0 ml Tris HCl pH: 8.0
1.5 ml NAD
5 gotas D-manosa-6-fosfato
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS**
5 µl PGI**
20 µl G6pdh**
2 ml de agar

** Lábil o fotosensible, agregar inmediatamente antes de usar.

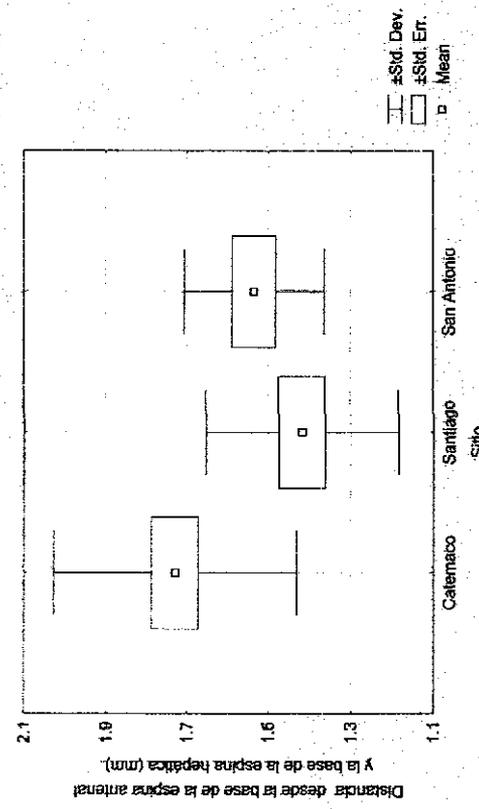
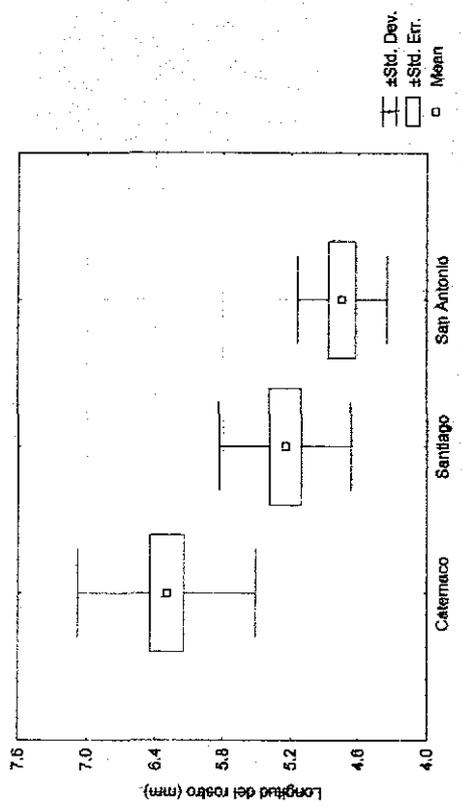
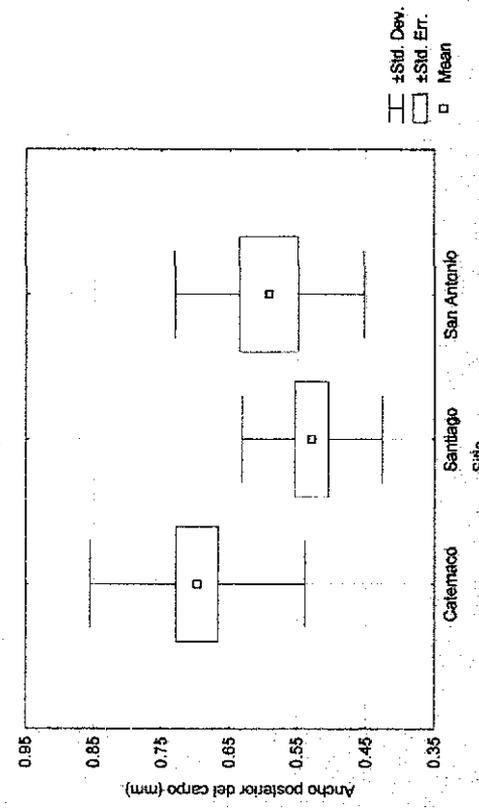
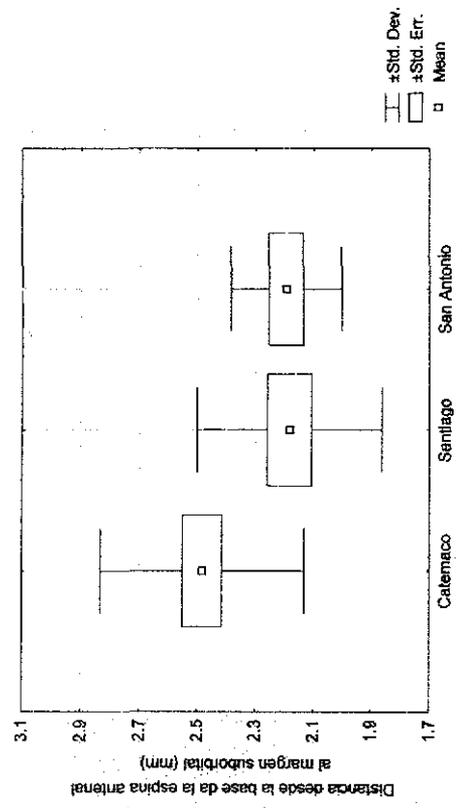
ANEXO No. 3.

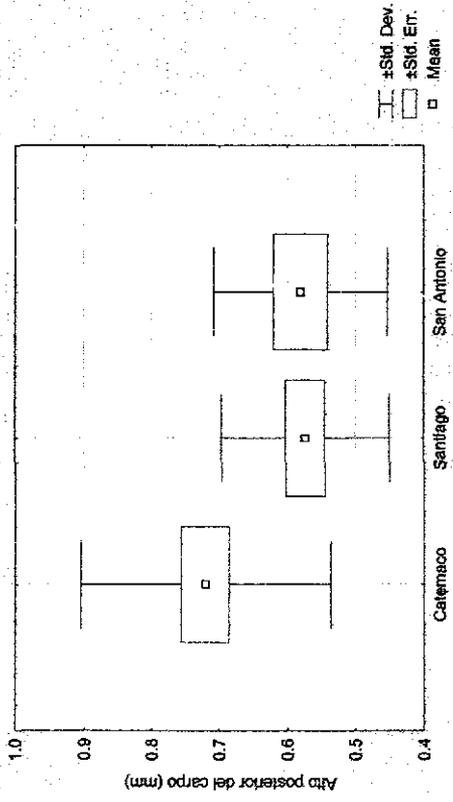
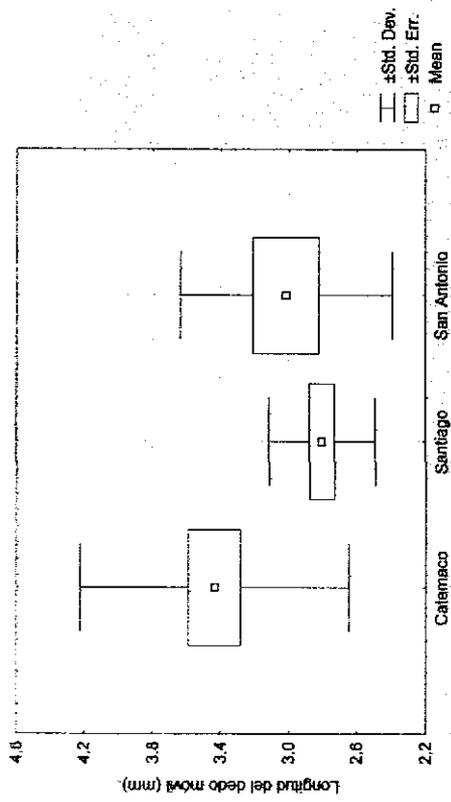
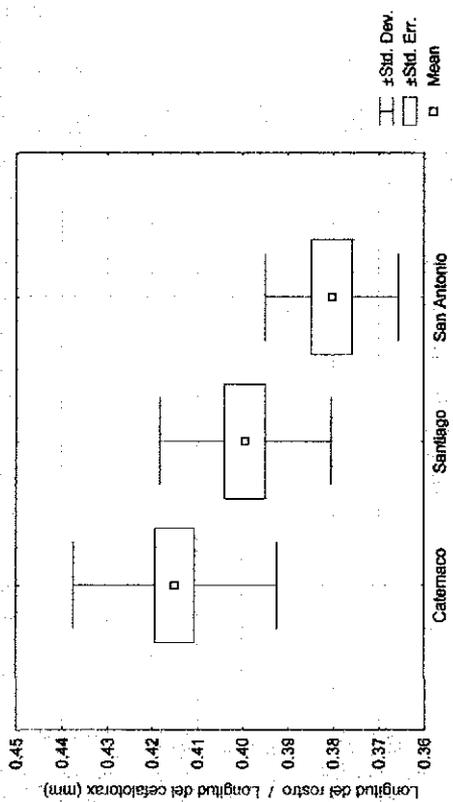
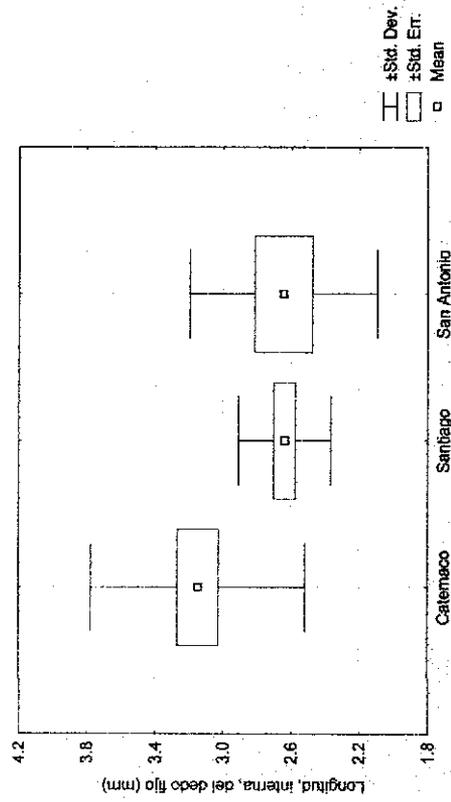
Gráficas del análisis de varianza, para los caracteres que presentaron diferencias estadísticas significativas, por sitio y por sexo inter e intrapoblacionales (Tabla XXII).

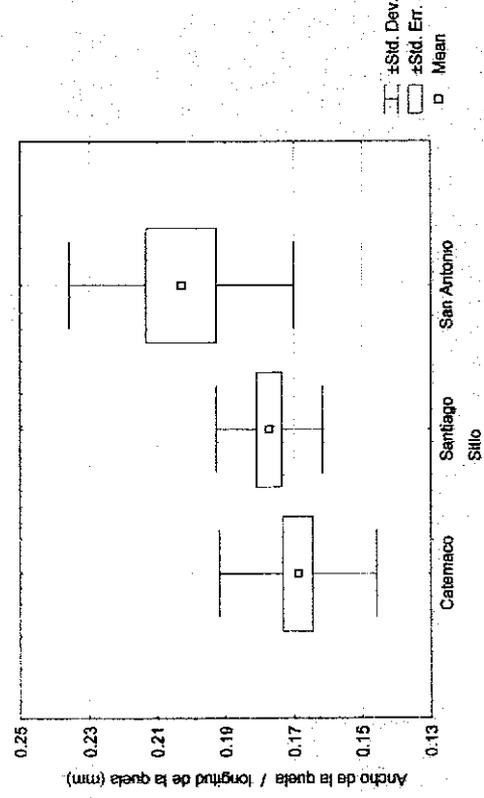
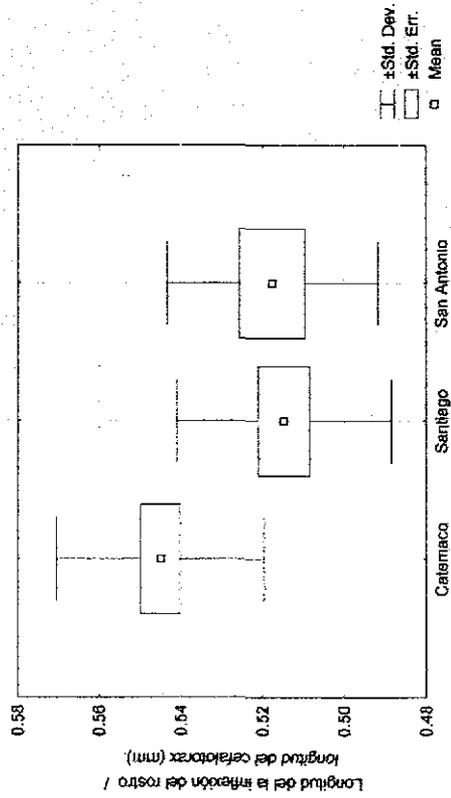
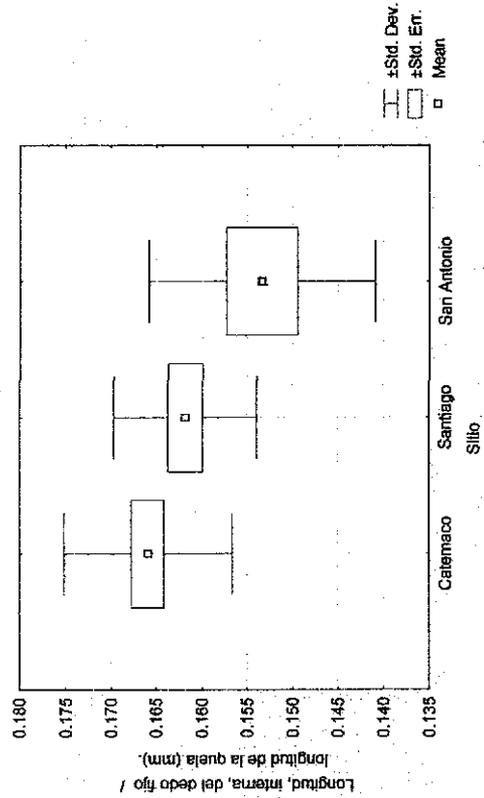
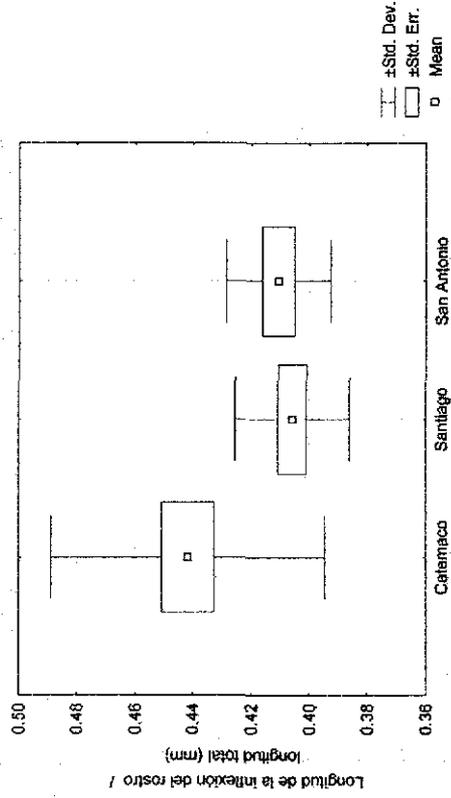
INSTITUTO VETEROINARIARIO
 DE GUATEMALA
 CENTRO DE INVESTIGACIONES
 Y REFERENCIA EN PATOLOGÍA
 Y DIAGNÓSTICO
 DE ANIMALES DOMESTICOS



TESIS CON
FALLA DE ORDEN

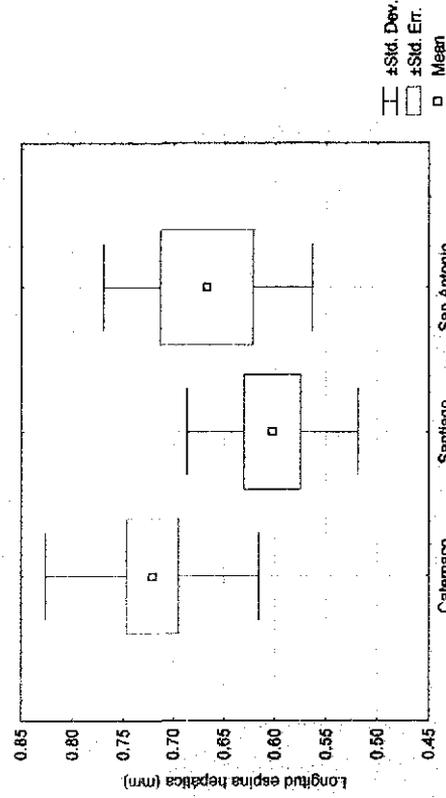
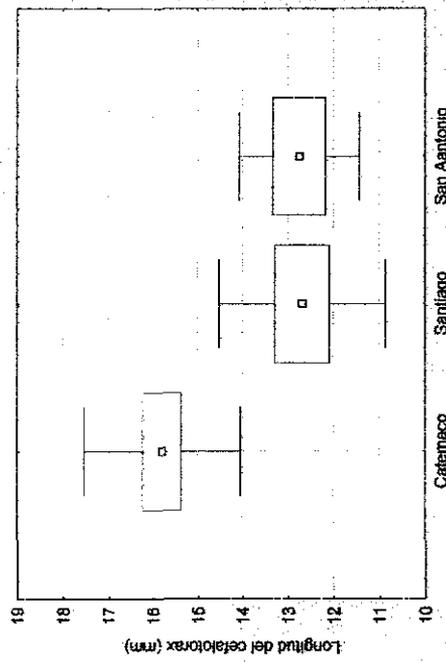
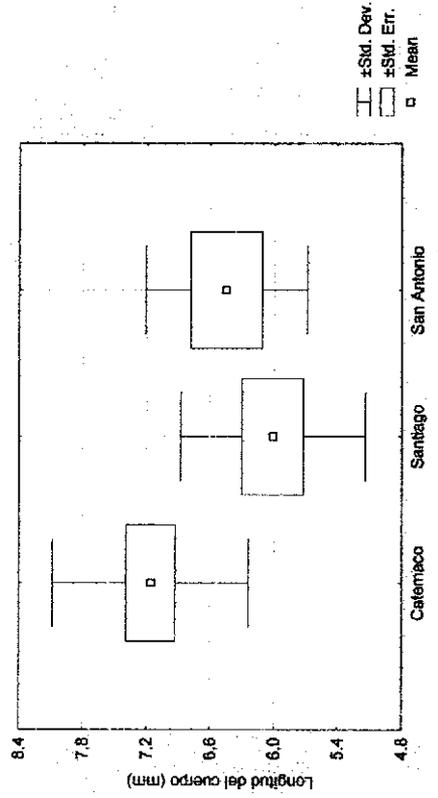
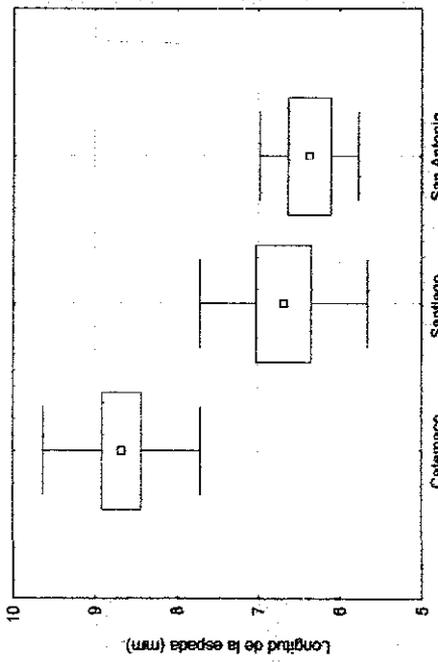


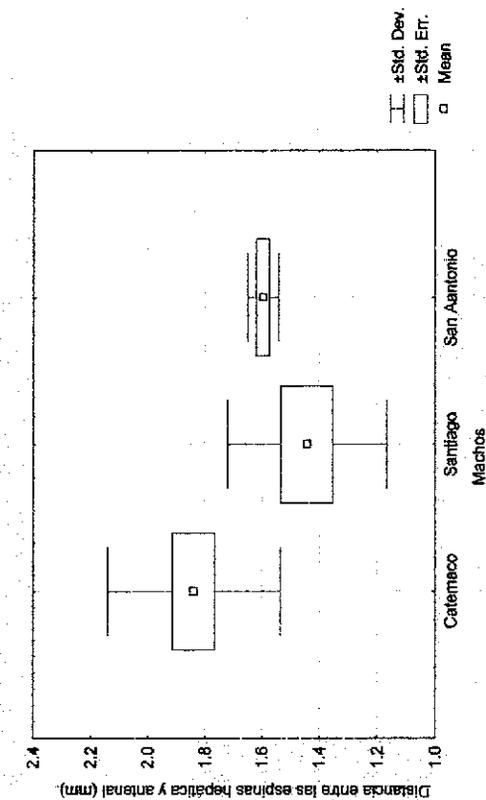
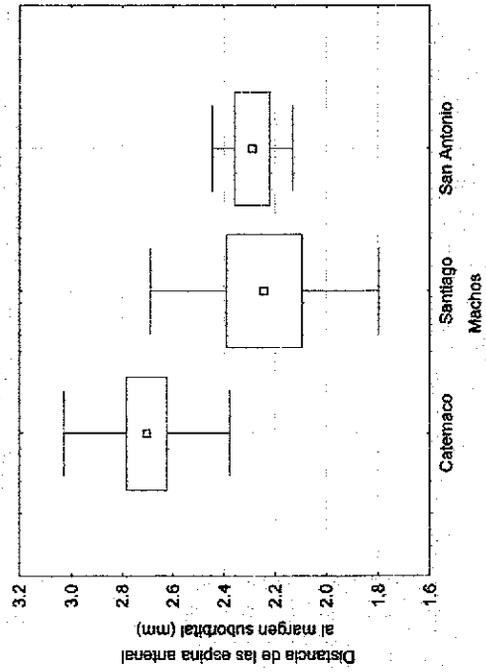
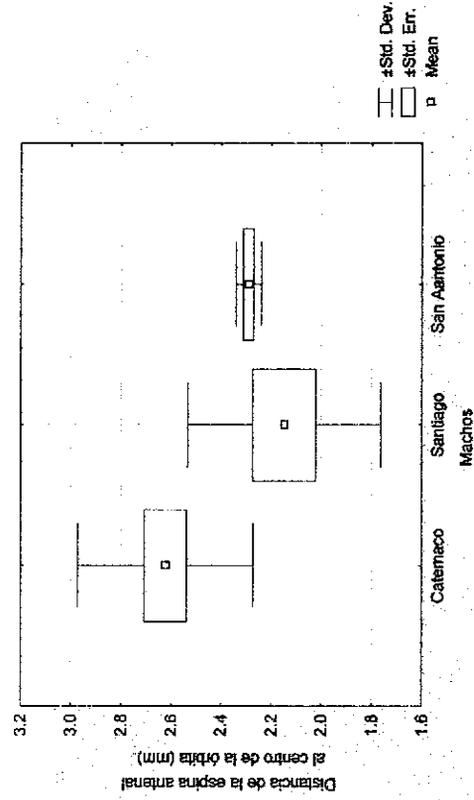
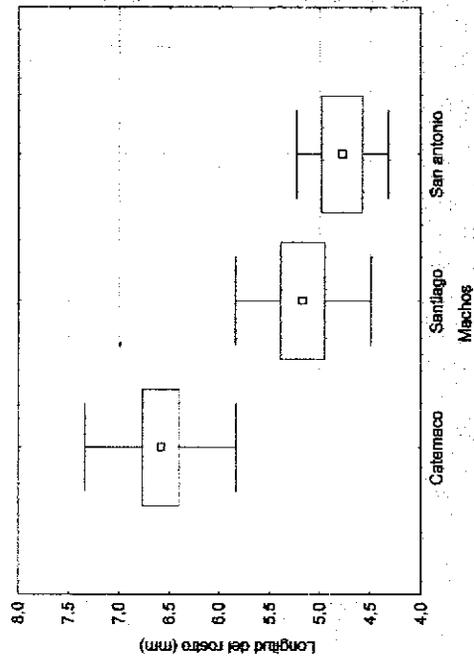


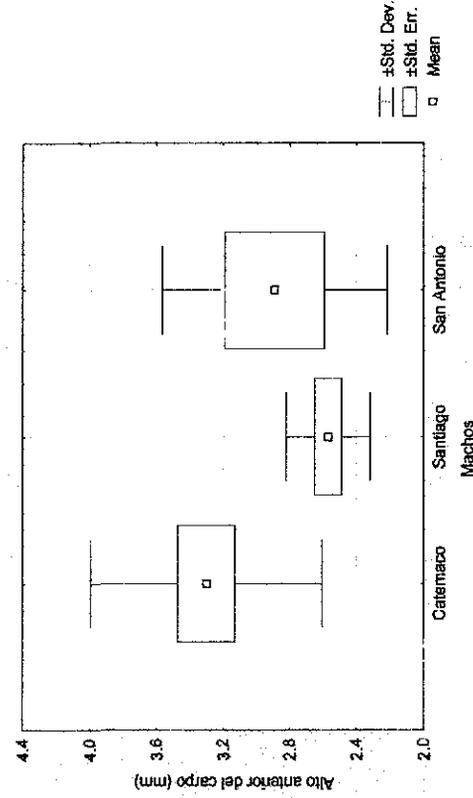
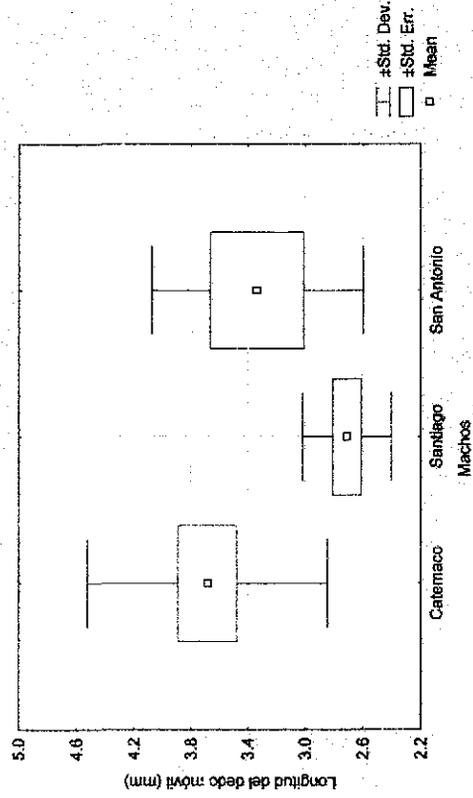
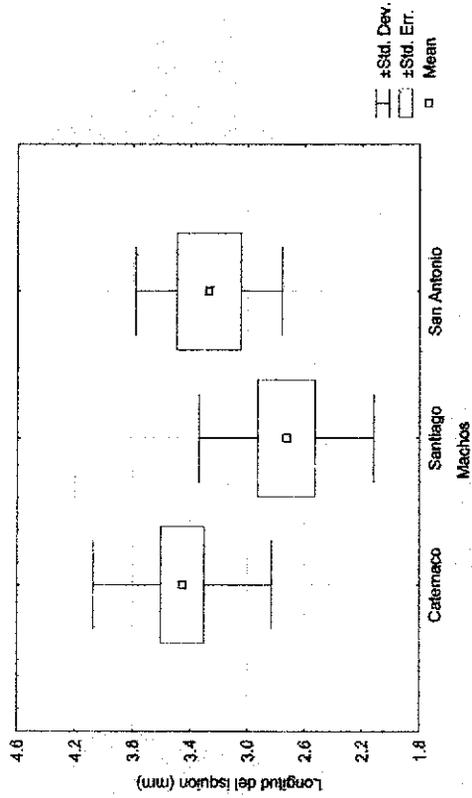
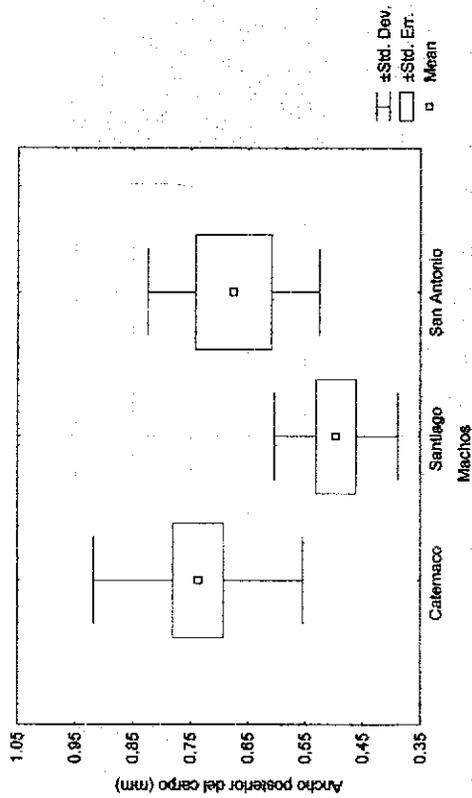


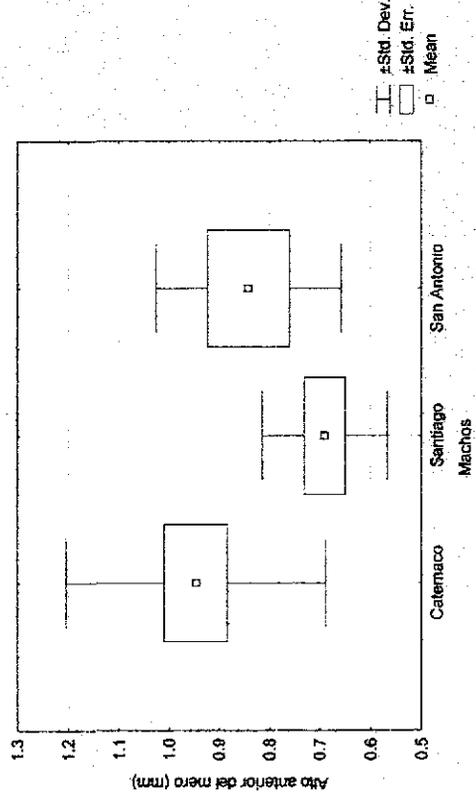
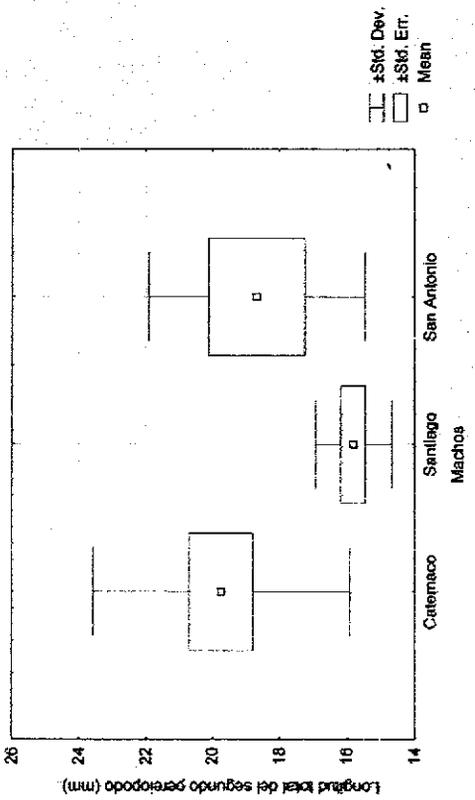
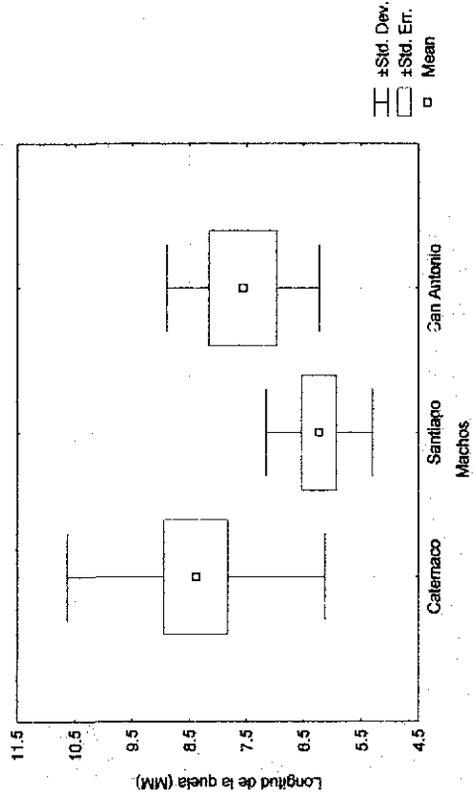
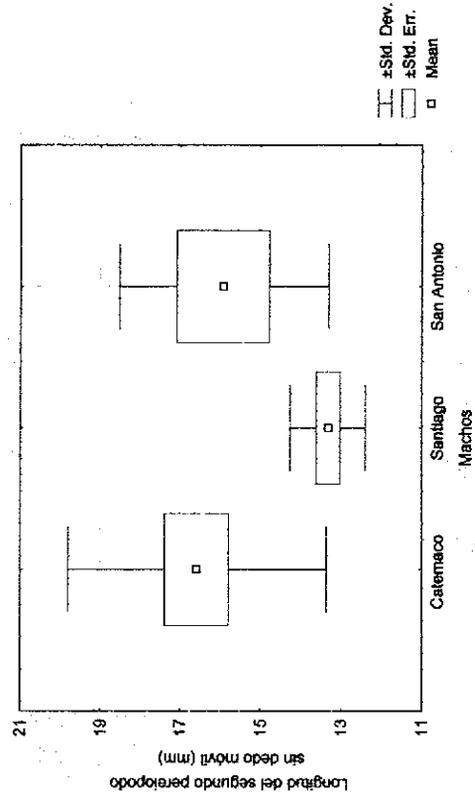
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

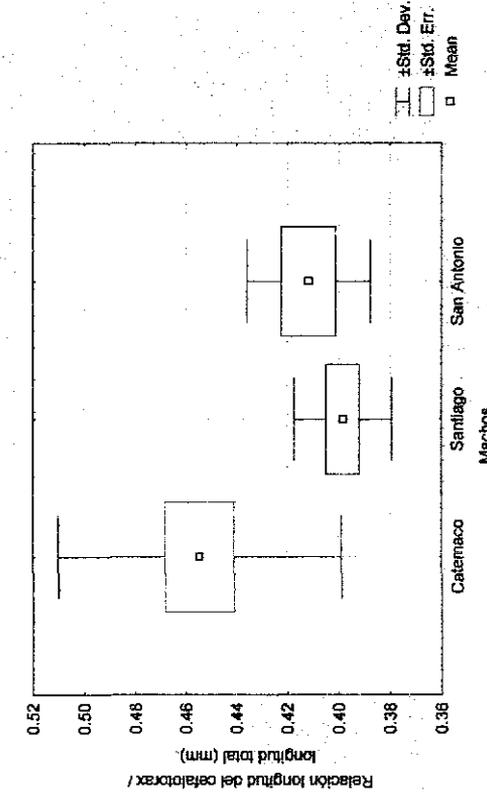
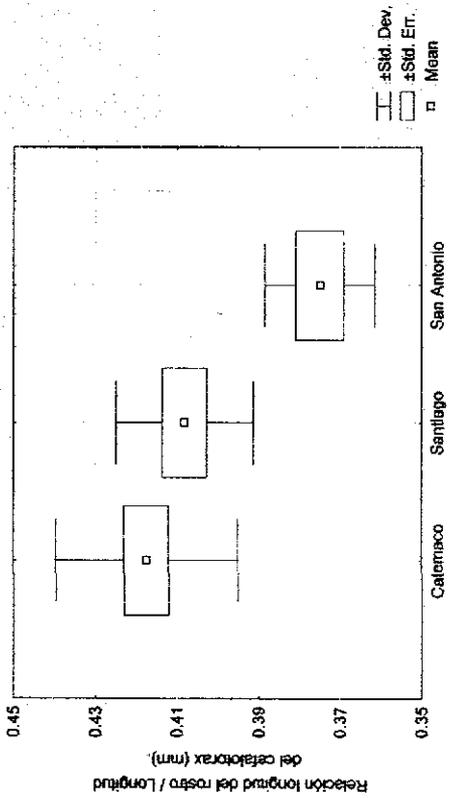
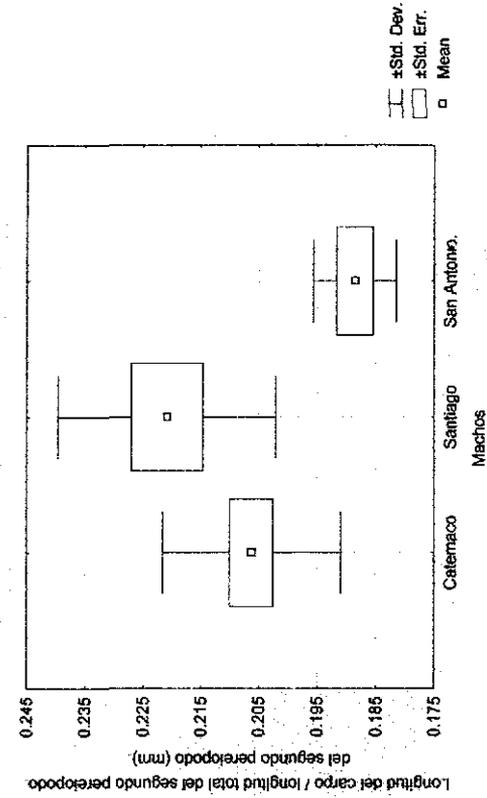
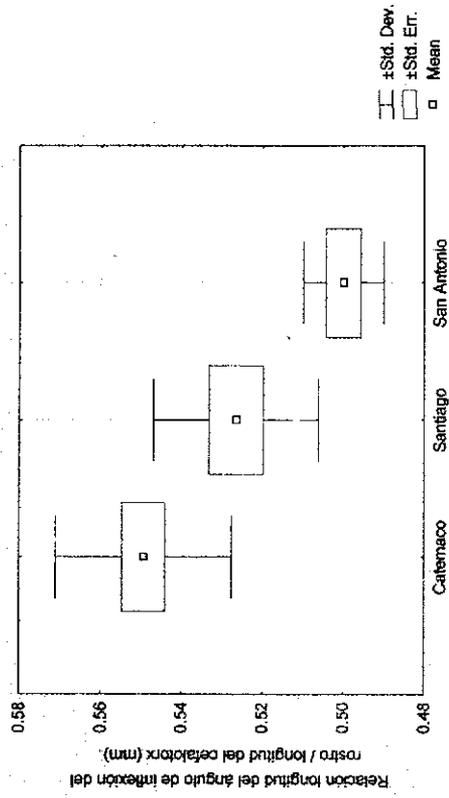
IMPRESION
FALLA LE ORGEN

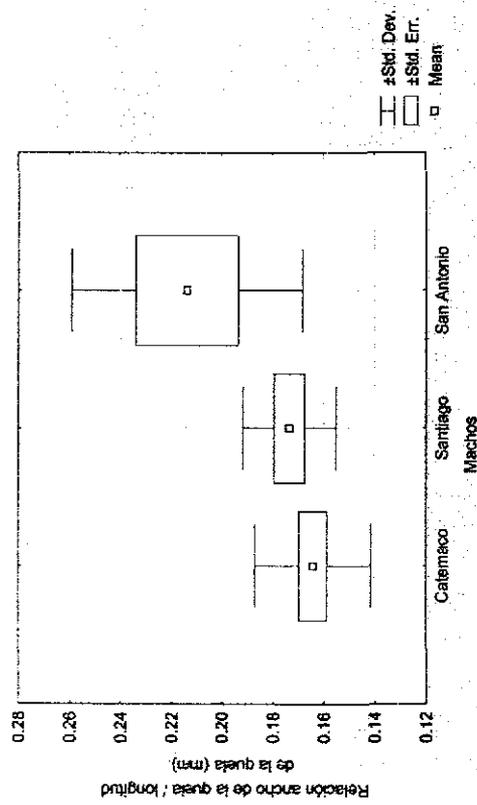
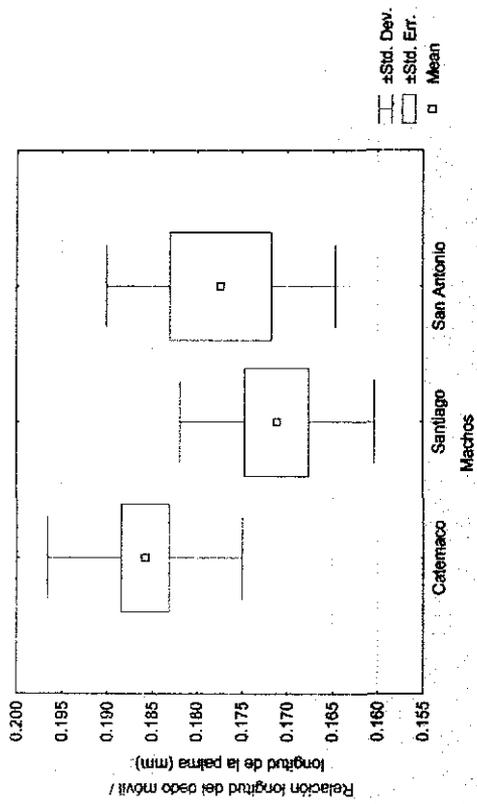


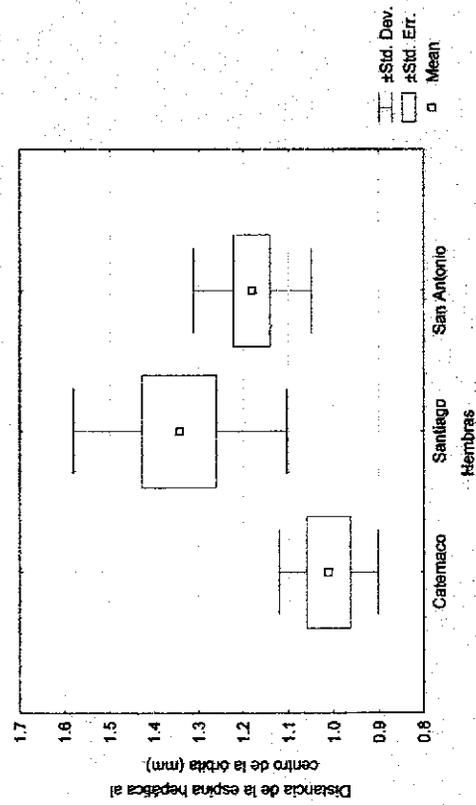
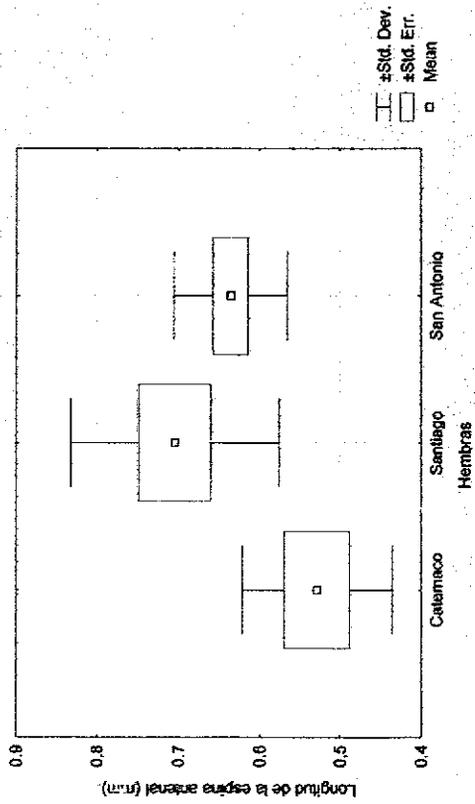
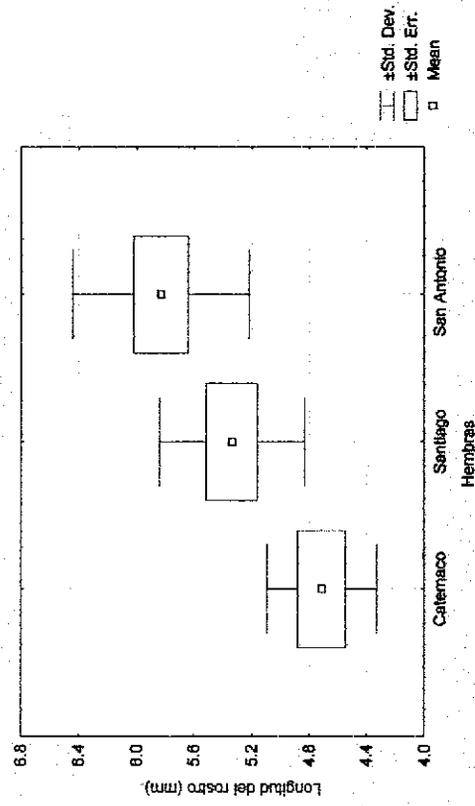


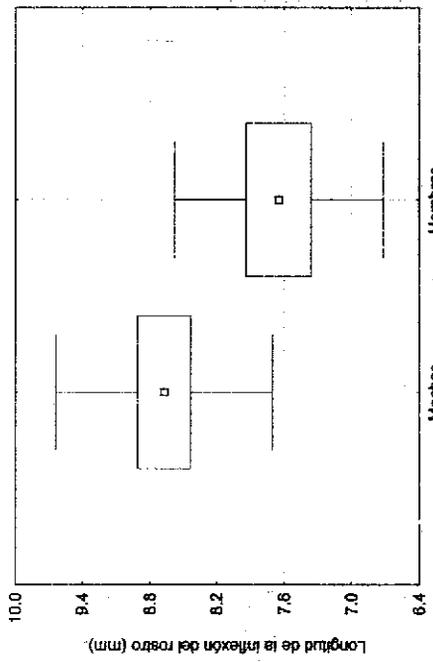




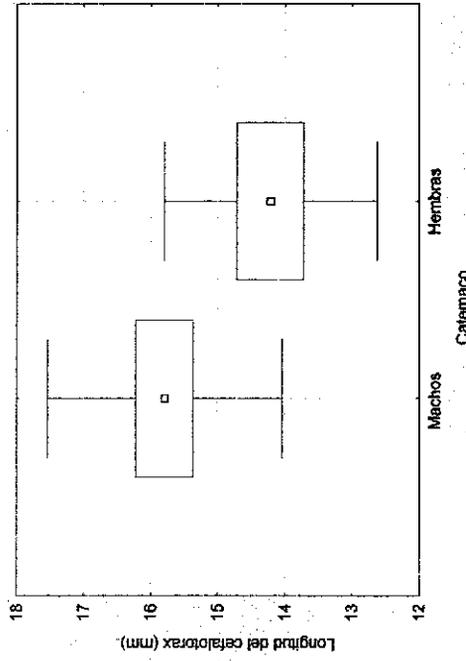




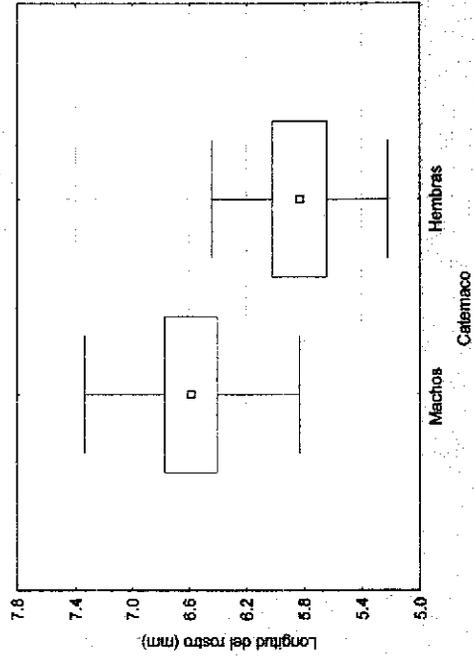




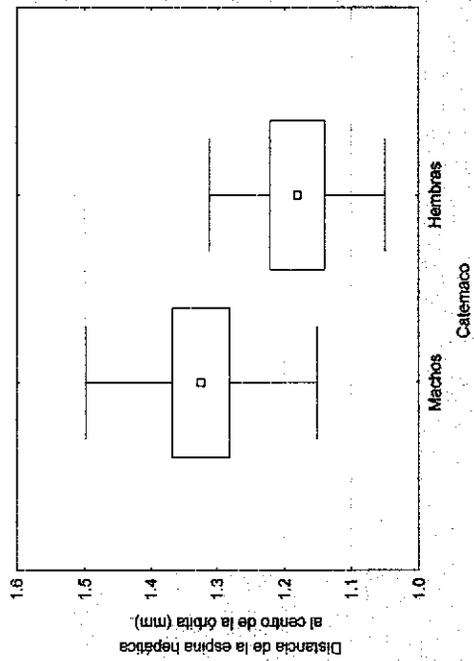
±Std. Dev.
 ±Std. Err.
 □ Mean



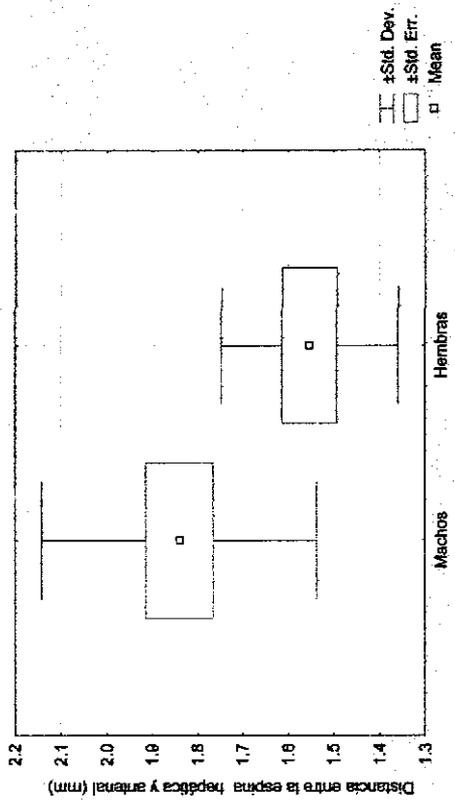
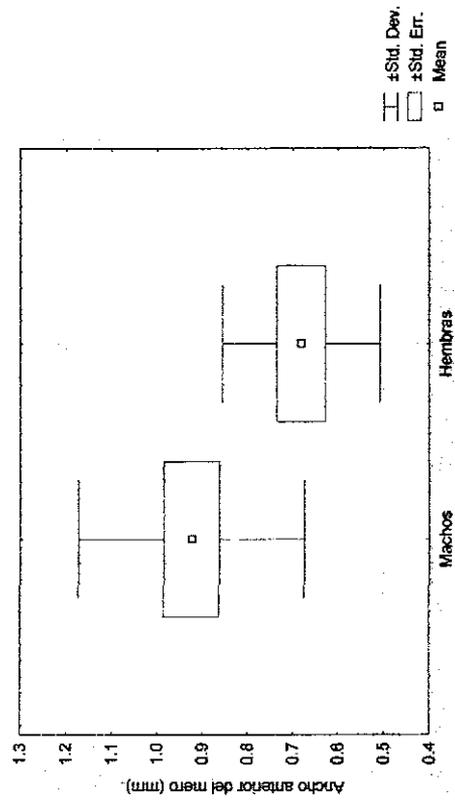
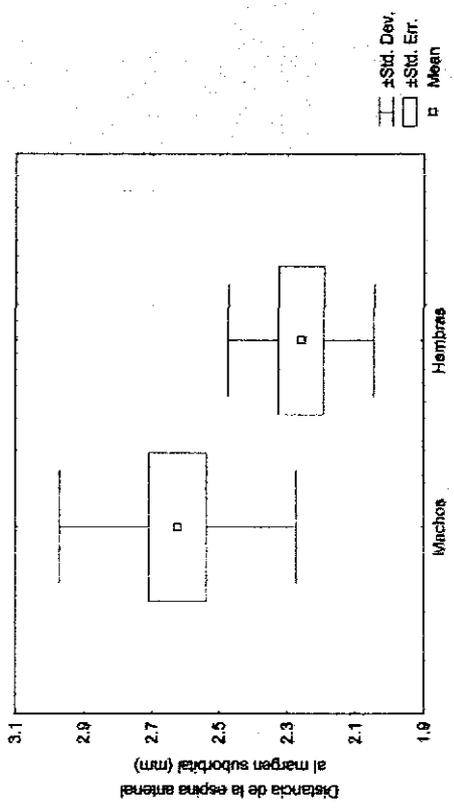
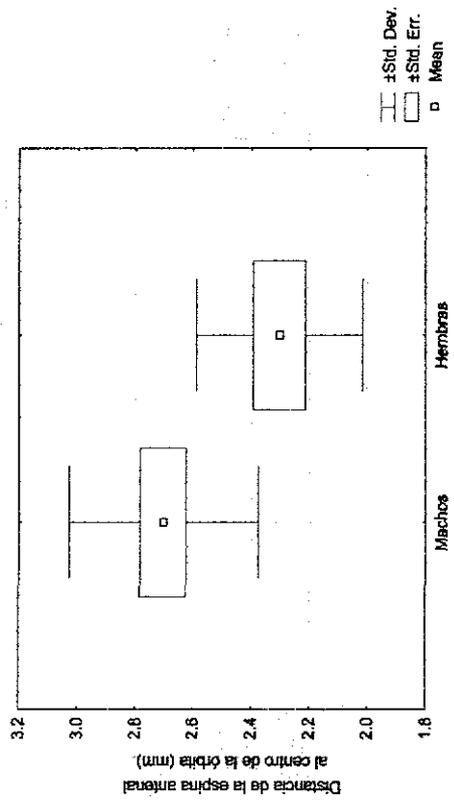
±Std. Dev.
 ±Std. Err.
 □ Mean

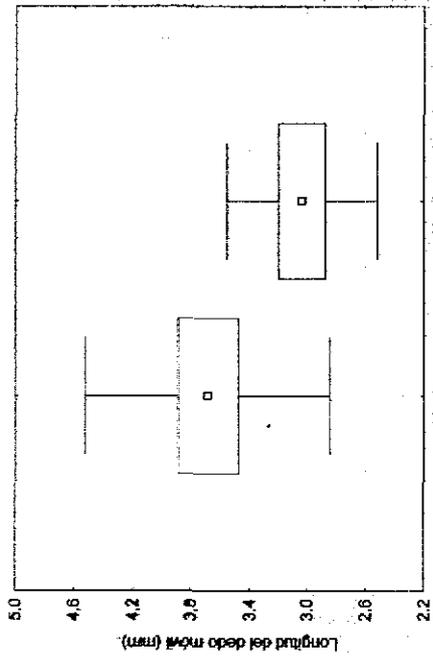


±Std. Dev.
 ±Std. Err.
 □ Mean

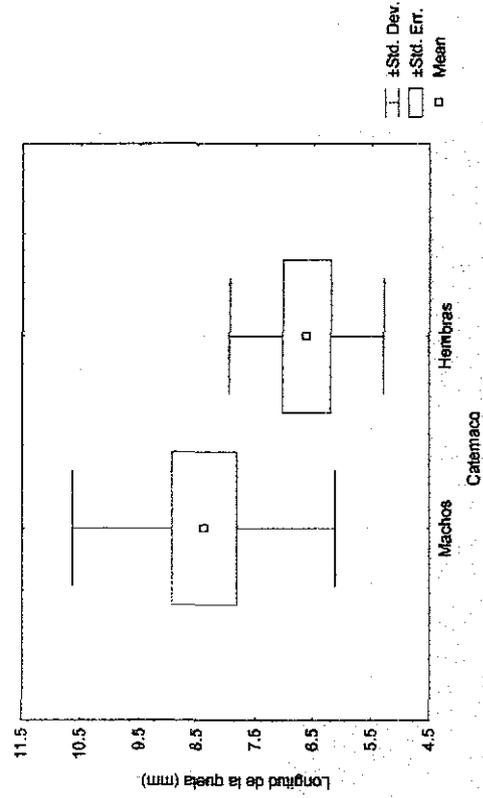


±Std. Dev.
 ±Std. Err.
 □ Mean

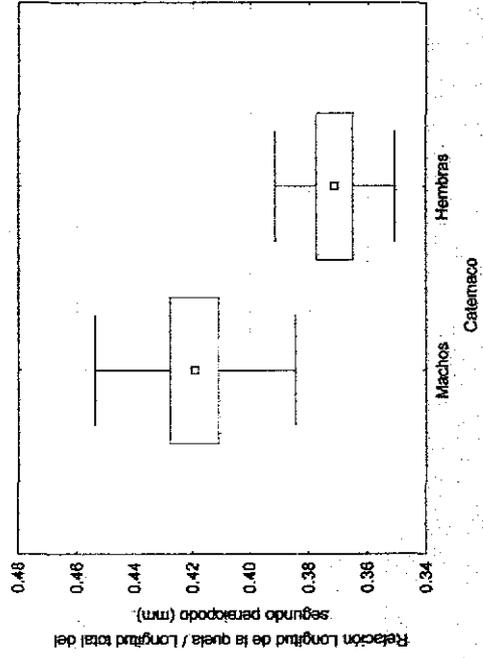




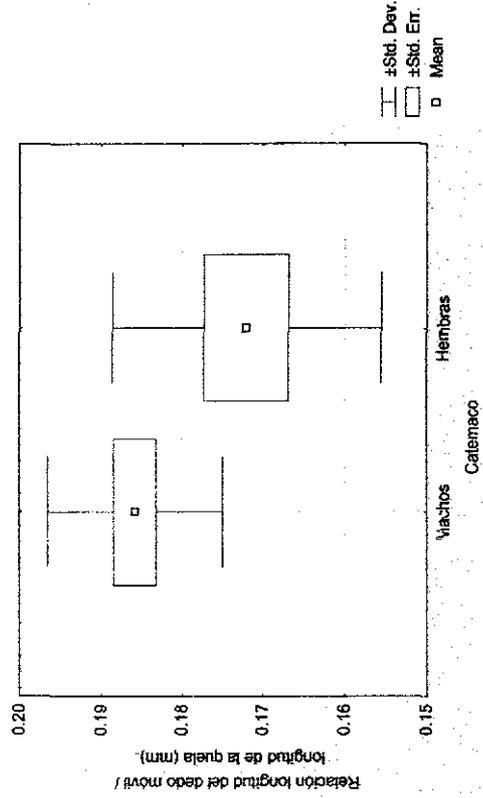
±Std. Dev.
±Std. Err.
□ Mean



±Std. Dev.
±Std. Err.
□ Mean



±Std. Dev.
±Std. Err.
□ Mean



±Std. Dev.
±Std. Err.
□ Mean

