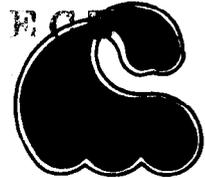




INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

CIENCIAS MARINAS
I. P. N.
BIBLIOTECA



CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

**“IDENTIFICACION DE RAZAS GEOGRAFICAS DE
Opisthonema sp
DE LAS COSTAS DE BAJA CALIFORNIA SUR”**

T E S I S

**Que para optar el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS presenta:**

BIOL. LUZ MARIA LAGUNEZ MORENO

LA PAZ, B.C.S. AGOSTO DE 1989.

El presente trabajo se inició en las instalaciones del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de esta ciudad y se concluyó en el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN), con apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, para la adquisición del equipo y reactivos utilizados en el proyecto PCECBNA-021251, de donde se derivó esta tesis bajo la dirección del Dr. Faustino Rodríguez Romero (Instituto de Ciencias del Mar y Limnología - UNAM) y con la asesoría del Dr. José Luis Ochoa (CIB) y del M. en C. Raúl Guerrero Godínez (CICIMAR-IPN).

C O N T E N I D O

	PAG.
R E S U M E N	
1. INTRODUCCION	1
2. GENERALIDADES SOBRE <u>Opisthonema spp</u>	4
3. AREAS DE ESTUDIO	7
4. MATERIAL Y METODOS	11
5. RESULTADOS	24
5.1. Breve descripción del aparato reproductor	25
5.2. Citogenética	26
5.3. Estudio electroforético	28
6. DISCUSION	31
7. CONCLUSIONES	36
8. ILUSTRACIONES	37
9. BIBLIOGRAFIA	40

R E S U M E N

Con el fin de contribuir al conocimiento biológico de la sardina crinuda (Opisthonema) particularmente, en lo referente a su taxonomía, se realizó el presente trabajo, con base en el análisis cariológico y el análisis electroforético de las proteínas musculares solubles de estos organismos. Los ejemplares fueron colectados en Bahía Magdalena, B.C.S. y Bahía de La Paz, B.C.S., durante dos temporadas de pesca comercial (1984-1985 y 1985-1986). Para identificarlos, se utilizó el método de Berry y Barret (1963), lo cual sirvió como referencia para comparar los resultados obtenidos. Mediante este método se encontró que solamente se capturaron ejemplares de O. libertate y ejemplares de O. medirastre, por lo que no se discute la otra especie (O. bulleri) simpátrica.

La metodología empleada para el estudio cariológico está basada en la técnica de Capanna y Cataudella (1972), encontrándose 24 pares de cromosomas, cuatro pares submetacéntricos y el resto acrocéntricos, en ambas especies; con base en estas observaciones se concluyó que O. libertate y O. medirastre son elementos de una sola especie. El análisis electroforético se realizó de acuerdo al protocolo de Morgan II y Ulanowicz (1976), así como las indicaciones de Maurer (1971) y del instructivo de técnicas de laboratorio para electroforesis en gel de poliacrilamida de Pharmacia. Se describen los patrones electroforéticos de ambas especies en los que se observa mayor variación protéica intraespecífica que interespecífica, por lo cual se concluyó que este hecho señala la presencia de una sola especie y que la variación intraespecífica se debe al estado fisiológico de los organismos.

1. INTRODUCCION

La sardina es uno de los componentes más abundantes de los recursos pesqueros del Estado de Baja California Sur y constituye la materia prima para la elaboración de harina, aceite y productos enlatados de consumo nacional popular (Sevilla, 1983). De acuerdo con Pedrín y Ancheita (1976), la sardina **crinuda** empezó a explotarse en Bahía Magdalena, B.C.S., en el año de 1963 y hasta 1969 su captura se mantuvo en aproximadamente 2,219 ton/año pero cuando la captura se amplió al Mar de Cortés, la producción se incrementó a 31,299 ton en la temporada 1972-1973.

Berry y Barret (1963) describieron 5 especies del género Opisthonema: O. libertate, O. medirastre, O. bulleri (para el Pacífico Mexicano), O. berlangai (Islas Galápagos) y O. oglinum (del Atlántico); y elaboraron un método para su identificación, el cual se basa en el número de branquiespinas del hueso ceratobraquial del primer arco branquial en función de la longitud patrón del ejemplar y el área geográfica de captura.

Desde entonces han existido discrepancias respecto a la validez de la especie O. medirastre debido a su gran semejanza con O. libertate principalmente, por lo que puede pensarse que se trata de una subespecie o raza geográfica cuyo proceso evolutivo no alcanza aún el nivel específico.

Recientemente, se han realizado diversos trabajos de investigación para dilucidar dicho problema, entre los que destacan: **Rodríguez-Sánchez (1985)**, **López-Lemus (1986)** y **Hedgecock et al, (1988)**. Sin embargo, se considera necesario añadir otros elementos de juicio (información cariológica y bioquímica) para que los **taxónomos normen** su criterio en este caso particular de las sardinas.

Las especies estrechamente relacionadas entre sí poseen cromosomas de igual morfología, número y características bioquímicas (**Lagler et al, 1984**).

Entre los autores más notables en el estudio de los cromosomas de peces están: **McPhail** y Jones, 1966; **Mayers** y Roberts, 1969; Denton y Howell, 1969; **Ohno**, 1970; Capanna y Cataudella, 1972; Le Grande y Fitzsimons, 1976; Cano et al., 1982; Thode et al., 1983; Uyeno et al., 1983 y Murofushi et al., 1983, 1984.

La citogenética de peces ha venido desarrollándose desde los años 60's pero ha alcanzado gran auge en los 70's (**Denton, 1973**). Y tanto esta disciplina como la Genética Bioquímica casi en forma paralela, han servido para dilucidar problemas de identificación de especies que no se pueden distinguir morfológicamente.

Desde principios de los años 60's se obtuvieron estimaciones de la variación genética de poblaciones naturales de muchos organismos por medio de electroforesis en gel (Ayala y Kiger, 1984). Diversos au-

tores han utilizado esta misma metodología, entre ellos se encuentran Yamanaka et al., (1965), Vrooman y Paloma (1975) y Corzo et al., (1984); quienes reportan patrones electroforéticos de proteínas musculares y del suero sanguíneo de varias especies de peces, para análisis poblacional.

El desarrollo de diversas técnicas de separación de proteínas, tales como electroforesis, inmunolectroforesis y la cromatografía ha permitido mejorar el estudio de los aspectos bioquímicos de muchos organismos. Pero hasta que se combinan estos métodos bioquímicos con los métodos y técnicas biométricas genéticas y citogenéticas, fué posible constatar las variaciones importantes que ocurren en el interior de cada especie (Berthelemy, 1978; Muñoz-Sevilla, 1982).

1.1. O B J E T I V O

El presente trabajo tiene como objetivo principal la tipificación electroforética de proteínas musculares-solubles y el análisis de algunos rasgos citogenéticos fundamentales en dos poblaciones de Opisthonema spp comunes de las costas de Baja California Sur, cuyos resultados coadyuven al mejor establecimiento de sus interrelaciones taxonómicas.

2. GENERALIDADES SOBRE Opisthonema spp

2.1. Posición taxonómica (Lagler et al., 1984)

Phylum Chordata

Subph Gnathostomata

Clase Osteichthyes

Subcl Actinopterygii

Supor Clupeomorpha

Orden Clupeiformes

Subord Clupeoidei

Supfam Clupeoidae

Familia Clupeidae

Género Opisthonema (Gill, 1861)

Especies O. libertate (Günther, 1866)

O. medirasdtre (Berry y Barret, 1963)

O. bulleri (Regan, 1904)

2.2. Aspectos biológicos

Las sardinas **crinudas** son peces marinos de aguas tropicales y subtropicales (Fig. 4).

El conocimiento biológico y ecológico de Opisthonema se ha visto incrementado en las últimas décadas: Gutiérrez y

Padilla (1974) reportan la distribución de huevos y larvas de sardina crinuda, en el Golfo de California; Mota Alves y Sawaya (1975) realizaron un estudio sobre la reproducción de O. oglinum (especie del Atlántico); Páez Barrera (1976) describió el desarrollo gonadal, madurez, desove y fecundidad de O. libertate de las costas de Mazatlán, Sinaloa; Torres Villegas et al., (1985) evalúan la fecundidad relativa de O. libertate y señalan que el período de reproducción es desde marzo hasta septiembre; Funes Rodríguez y Esquivel Herrera (1985) describieron larvas de Opisthonema spp con el fin de diferenciarlas de larvas de Sardinops sagax, basándose en las características morfométricas y métricas que se utilizan para distinguir a O. oglinum. Romero Ibarra (1988) analizó los contenidos estomacales de las especies de Opisthonema de Baja California Sur, para estudiar los hábitos alimenticios de las mismas. Por lo tanto, este trabajo es una aportación más al conocimiento biológico de la sardina crinuda.

- 2.3. Diagnósis de las tres especies de Opisthonema (Berry y Barret, 1963) del Pacífico Mexicano.
- 2.3.1. O. medirastre (Berry y Barret, 1963). El número de branquiespinas ceratobraquiales aumenta con la correspondiente longitud patrón (L.P.) hasta cerca de 170 a 200 mm. En especímenes de 200 mm de L.P. se encuentran de 50 a 69 branquiespinas. Su distribución geográfica comprende las aguas costeras del Pacífico Oriental, del Perú a Los Angeles, California, E.E.U.U.
- 2.3.2. O. libertate (Günther, 1866). El número de branquiespinas ceratobraquiales aumenta conforme se incrementa la longitud del cuerpo, hasta tamaños mayores de 200 mm en las que se cuentan de 79 a 110 branquiespinas. Dicho incremento y su variación se pueden apreciar en la tabla elaborada por los autores mencionados como única forma, para identificar las especies del género Opisthonema. Su

distribución también es semejante a la especie anterior: del Perú a México, en las costas del Pacífico Oriental.

- 2.3.3. O. bulleri (Regan, 1904). Las branquiespinas ceratobraquiales aumentan en número con el correspondiente incremento de la longitud corporal hasta cerca de 140 a 170 mm de L.P., 26 a 36 branquiespinas ceratobraquiales en especímenes de 170 a 200 mm de L.P., (el incremento en el número de branquiespinas ceratobraquiales con respecto a la longitud patrón aparece en la tabla de identificación mencionada). Su distribución geográfica es en las aguas costeras del Pacífico Oriental, del Perú a México.

3. AREAS DE ESTUDIO

3.1. Bahía Magdalena, B.C.S. (Figs. 1,2).

Por su amplitud y la existencia de valiosos recursos pesqueros, se considera que Bahía Magdalena es una de las áreas más importantes en B.C.S. La bahía se localiza en la costa Noroccidental en Baja California Sur, México, entre las coordenadas de 23°45' - 24°45' latitud Norte y 112°55' - 111°45'

longitud Oeste. La línea de costa externa a la bahía es de aproximadamente 115 km, orientada hacia el sureste, desde Cabo San Lázaro hasta Punta Tosca y presenta una pendiente submarina con promedio de 20 m por 1080 m (Salinas-González, 1987). La costa es dominada por tres islas graníticas escarpadas con acantilados altos y 38% de playas (Wright, et al., 1973). Los vientos que prevalecen son del Noroeste en forma constante de mayo a octubre. De noviembre a febrero son más frecuentes los vientos del Sureste (U.S. Naval Oceanographic Office, 1951). La fuerza más importante que da origen a las grandes corrientes oceánicas es la del viento.

La Corriente de California se encuentra al Este del gran giro anticiclónico; ésta se forma a partir de la Corriente del Pacífico del Norte que se caracteriza por ser fría y de baja salinidad. Al acercarse a la costa occidental del Continente Americano, entre los 45° - 50° de latitud Norte, se divide en dos ramas, una superior que viaja hacia el Norte pasando a formar parte de la Corriente de Alaska y otra inferior que se dirige hacia el Sur, formando la Corriente de California. Esta corriente fría predomina durante la primavera originando un régimen templado.

En su largo recorrido de Norte a Sur, la Corriente de California cambia paulatinamente sus propiedades, incrementando

la salinidad y la temperatura, debido a la radiación solar y la mezcla con aguas más cálidas y salobres del Oeste (Reid Jr. et al., 1956-58). En la superficie, existen contracorrientes, una de las cuales (la de Davidson, que es una masa de agua ecuatorial), proporciona, en Bahía Magdalena, un régimen tropical y es predominante en el otoño (Wyllie, 1966). Otra característica oceanográfica importante, para el ecosistema de Bahía Magdalena, es la presencia de surgencias costeras, las cuales acarrear nutrientes desde el fondo hacia la superficie, quedando disponibles para la producción orgánica primaria. Pero también modifican la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto (Bakun y Nelson, 1977) lo que afecta a los organismos marinos en sus diversos estadios de desarrollo. Los resultados obtenidos por Salinas-González (1987), confirman la existencia de una surgencia frente a Bahía Magdalena y que alcanza a penetrar al interior de la bahía.

3.2. Bahía de La Paz, B.C.S. (Figs. 1,3).

Situada en la región suroeste del Golfo de California, la Bahía de La Paz constituye uno de los cuerpos de agua de mayor extensión en el Golfo y el principal en la Costa Oriental de Baja California (Chávez, 1985). El mismo autor considera como límites entre la bahía y el Golfo, una línea

imaginaria trazada desde Punta Mechudo hasta la Isla Espí-ritu Santo, la propia isla, y luego del extremo sur de ella a la Punta Arranca Cabello en la Península. En dicha obra también se menciona la existencia de varias islas y ensenadas que tiene la bahía, haciendo énfasis en la formación o barra arenosa conocida como El Mogote, el cual divide a la bahía limitando al suroeste a la Ensenada de La Paz (o Ensenada de Aripes). El Mogote se extiende en dirección Oeste-Este. La ensenada se localiza entre las coordenadas 24°11' latitud Norte y 110°19' longitud Oeste, y tiene una superficie de 50 km cuadrados (Villamar, 1965). En la bahía de La Paz la temperatura media anual es de 24.6° C, pero varía de 19.1° C - 34.0° C y la salinidad promedio es de 35.4°/oo (Villamar, op. cit.). Dentro de la ensenada los parámetros físicos y químicos varían siendo más alta la temperatura y la salinidad que en la bahía debido a la poca profundidad, el escaso aporte de agua dulce y a la intensidad de la radiación (Cervantes-Duarte y Guerrero-Godínez, 1987). El oxígeno tiene una variación según el lugar y la época en que se haga el estudio: 3ml/l (Espinosa et al., 1979; Espinosa, 1977).

La Ensenada o Laguna de La Paz presenta un régimen de mareas tipo semidiurna mixta con una amplitud media de 1.02 m y velocidades de corrientes hasta de 0.46 m/seg (Félix-Pico, 1976). Los vientos dominantes provienen del Noroeste

(de noviembre a marzo) y con dirección Oeste-Sureste (de abril a agosto) provocando corrientes superficiales. El clima es de tipo seco, cálido, extremoso con lluvias en verano (García, 1973).

4. MATERIAL Y METODOS

4.1. Material biológico

Los ejemplares de sardina crinuda que se utilizan en el presente trabajo se colectaron en Bahía Magdalena, B.C.S., y Bahía de La Paz, B.C.S., (cuya localización geográfica se da en las Figs. 1-3), durante dos temporadas: Agosto 1984 - Febrero 1985 y Agosto 1985 - Febrero 1986. Todos los organismos fueron tomados al azar. En Bahía Magdalena, la colecta se hizo a bordo de las embarcaciones de la flota comercial, obteniéndose las sardinias de la bolsa que se forna con la red de cerco en el momento de la captura. En cambio, los ejemplares colectados en la Bahía de La Paz fueron capturados con un chinchorro de más de 200 brazas de longitud y con luz de malla de una pulgada haciendo el cerco con una lancha de motor de dos tiempos. La identificación de las especies de Opisthonema se hizo de acuerdo con el método de Berry y Barret (1963), contando las branquiespinas de la porción ceratobraquial del primer arco branquial y

midiendo la longitud patrón de los organismos.

Para distinguir los sexos y la madurez gonadal de los ejemplares, se utilizó la escala de Nikolskii (1961) que usa características de la morfología externa de las gónadas en la que se señala lo siguiente:

- I. Individuos juveniles que nunca han desovado, de sexo indiferenciado.
- II. Gónada de tamaño pequeño. Los gametos no inician su desarrollo. En la gónada femenina aún no son visibles los ovocitos a simple vista.
- III. Los gametos femeninos ya están madurando, por lo que se ven a simple vista. La gónada incrementa de peso rápidamente. Los **testículos** adquieren un color rosa pálido.
- IV. La gónada alcanza su máximo peso, pero los gametos no salen bajo presión externa, ya están maduras las gónadas pero no están listas para el desove.
- V. Pre-desove: Los gametos ya salen al aplicar una leve presión en el tórax. El peso de la gónada disminuye rápidamente desde el inicio hasta el final del desove.

VI. Post-desove (estado de reabsorción). Las gónadas tienen la apariencia de un saco vacío, con muy pocos gametos sobrantes.

4.2. Metodología Citogenética

El procesamiento citogenético de los organismos en estudio, se realizó de acuerdo con lo propuesto por Capanna y Cataudella (1972). A los organismos más fuertes y vigorosos se les aplicó tratamiento intraperitoneal de colchicina al 0.01%, en proporción de 0.5 ml por cada 100 g de pez y se les mantuvo en un recipiente con suficiente agua y aereación un tiempo máximo de 2 horas. Inmediatamente después, se diseccionaron separándose las gónadas (Fig. 5), las que se colocaron y mantuvieron en una solución de citrato de sodio al 1% (P/V) por 30 min, a fin de producir un choque hipotónico celular. Se elimina la solución de citrato y se añade solución fijadora de Carnoy, formada por una mezcla de alcohol etílico-ácido acético, en proporción 3:1 guardándola en refrigeración por 24 horas. Después de este tiempo a las muestras de gónadas se les cambió el fijador por Carnoy recién preparado y se maceraron individualmente en presencia de este fijador en mortero de porcelana. Dicho macerado se suspendió en fijador y se centrifugó a 3000 r.p.m/5 min, después de lo cual se separó el sobrenadante y se eli-

minaron los restos gruesos de tejido sedimentado y se volvió a centrifugar la muestra de cada gónada a la misma velocidad (3000 r.p.m.) durante 10 minutos, al cabo de lo cual se eliminó el sobrenadante por decantación y el botón celular obtenido se volvió a resuspender en el fijador Carnoy recién preparado. Esta operación se repitió dos veces más y al final se guardó el botón celular en fijador y en refrigeración durante 24 horas. Para la elaboración de las laminillas se colocaron 2-3 gotas de la suspensión celular en portaobjetos, con unas gotas de fijador Carnoy para facilitar la extensión de las células y se dejaron secar al aire durante 24 horas a temperatura ambiente. La tinción de laminillas se realizó con colorante Giemsa (Sigma) al 4% durante 30 min, eliminando el exceso con agua corriente.

Una vez escurridas y secas las laminillas están listas para su observación y selección; las mejores, se deshidrataron con soluciones de alcohol etílico a diferentes concentraciones (70%, 96%, absoluto), con una mezcla de alcohol-acetona (1:1), acetona, acetona-xilol (1:1) y finalmente se transparentaron con xilol de donde se montan en resina.

La revisión de las laminillas se realizó en microscopio Carl Zeiss con contraste de fase. Para fotografiar los cromosomas se utilizó fotomicroscopio Carl Zeiss Gran Optovar

y película Kodak Plus-X Pan B/N. En los casos en que no fué posible fotografiar el material cromosómico, se hicieron esquemas lo más fielmente posible, utilizando tinta china y papel albanene.

4.3. Procedimiento para el análisis electroforético

Como complemento indispensable a los resultados del estudio citogenético se realizó el análisis electroforético de las proteínas musculares solubles de los organismos, con el fin de evidenciar las diferencias genéticas entre las especies (Utter et al., 1974).

El muestreo biológico de los ejemplares utilizados en el análisis electroforético se realizó al mismo tiempo que el muestreo para el estudio citogenético, se les guardó en refrigeración desde el momento de su captura y así se les trasladó al laboratorio donde se les mantuvo en congelador durante 1-2 semanas, mientras se les procesó.

El procedimiento para el análisis electroforético de las proteínas musculares solubles de sardina crinuda se basó en el que utilizaron Morgan II y Ulanowicz (1976), quienes tipificaron por este medio, las proteínas musculares solu-

bles de Menidia menidia (Atherinidae) para estimar su variación genética con fines taxonómicos.

4.3.1. Obtención de los extractos proteínicos

Los ejemplares se descongelaron al chorro de agua, enseguida se tomó una muestra (5 gr) del músculo epiaxial de cada uno, la cual se maceró en presencia de agua destilada (5 ml) en mortero de porcelana. Este macerado se diluyó en otro volumen igual de agua destilada (5 ml) y se procesó en homogenizador de tejidos (Polytronic) con el fin de liberar las proteínas musculares solubles. Inmediatamente, los homogenados se centrifugaron (en centrifuga DAMON/IEC) en dos etapas a 3000 r.p.m. por 5 minutos, obteniéndose los extractos proteínicos. La concentración protéica se estimó por medio del método de Lowry et al., (1951), el cual permite cuantificar las proteínas en solución mediante la reacción entre el reactivo de Folin y el cobre, realizándose de la manera siguiente:

- a) -El reactivo de Folin (comercial) se diluye 1:1 con agua destilada, solamente la cantidad necesaria y en el momento de usarlo.

- b) -Reactivo A: Carbonato de sodio al 2%, diluído en solución de hidróxido de sodio 0.1N.
- c) -Reactivo B: Sulfato de cobre pentahidratado al 5%.
- d) -Reactivo C: Tartrato de sodio y potasio al 10%.
- e) -Reactivo D: Una mezcla de 1 ml de B + 1 ml de C, en 10 ml de agua.
- f) -Reactivo E: 50 ml de A + 1 ml de D.
- g) -En un tubo de ensayo que contenga 1 ml de muestra (extracto protéico) añadir 1 ml de agua destilada y 5 ml del reactivo E, agitándolo durante 10 min (en Vortex), luego añadirle 0.5 ml del reactivo de Folin ya diluído (1:1) y después de agitar nuevamente el tubo, se deja en reposo durante 30 min antes de hacer la lectura (a 700 nm) en el espectrofotómetro (Spectronic 2000).
- h) -Simultáneamente se hacen las lecturas de una serie de soluciones de albúmina bovina, a diferentes concentraciones, para elaborar la curva tipo a partir de la cual se interpolan las lecturas

de densidad óptica (Y) y se calcula la concentración protéica de muestras (X), según se puede observar en la Gráfica 1.

4.3.2. Preparación de los reactivos

En la preparación de los reactivos se siguieron las instrucciones del manual de técnicas de laboratorio de Pharmacia (Polyacrylamide Gel Electrophoresis: PAGE) y tomando en cuenta las recomendaciones que da Maurer para realizar esta operación (Maurer, 1971).

4.3.2.1. Solución amortiguadora de corrimiento

Glicina (0.038M) ----- 28.52 g

Tris* (0.005M) ----- 6.06 g

Aforar a 1L con agua destilada, ajustar el pH a 8.3 con HCl 1N y

diluir diez veces en agua destilada (1:9).

Se utiliza la cantidad necesaria en cada corrida y se descarta después de usarla dos veces.

*TRIS = Tris (hidroximetil) - metilamina

4.3.2.2. Fijador de proteínas

Alcohol isopropílico al 5%, ácido acético al 10%, se mezclan por partes iguales y se almacena en frasco ámbar.

4.3.2.3. Tinción

La tinción de los geles se realiza con azul de Coomasie R250 al 0.1%, en metanol al 25%, ácido acético al 10% y agua destilada (v:v:v), según Diezel et al., 1972.

4.3.2.4. Solución decolorante

Para desteñir se utiliza una mezcla de metanol al 25%, ácido acético y agua destilada en partes iguales.

4.3.3. Preparación de los geles

El soporte para la separación electroforética de las proteínas musculares solubles consistió en geles de poliacrilamida de concentración homogénea al 7.7%. Este polímero se forma, según el mismo manual de electroforesis mencionado, mezclando so-

luciones stock. Solución A: 48 ml de HCl 1M, 36.6 g de TRIS, 0.46 ml de TEMED**, aforar a 100 ml con agua destilada y ajustar el pH a 8.9.

Solución B: 30 g de acrilamida y 0.8 g de bisacrilamida, aforar a 100 ml con agua destilada y filtrar.

Solución D: 0.14 g de persulfato de amonio aforar a 100 ml con agua destilada (preparar solamente la cantidad que se necesite diariamente).

Se mezclan en la siguiente proporción:

Solución A (1p), Solución B (2p), agua destilada (1p) y Solución D (4p); p = partes (volúmenes).

4.3.4. Preparación de las muestras

Las proteínas de los extractos crudos se mantuvieron en su forma natural mediante refrigeración por lo que solamente se les añadió glicerol al 40% (1/4 del volumen de la muestra), para aumentar su densidad, y 0.5 μ l de azul de bromofenol al 1% con el

**TEMED = N, N, N', N' - Tetrametiletildiamina

fin de visualizar la colocación de las muestras y también sirvió para indicar el momento de finalizar la electroforesis. Las alícuotas de extractos utilizadas fueron de 20 μ l cada una, por organismo en sendas columnas de gel.

4.3.5. Electroforesis

Para realizar el proceso electroforético se utilizó una cámara GE 2/4 y una fuente de poder EPS 500/400 de Pharmacia. El campo eléctrico se formó con una corriente continua de 4.2 mA/gel variando el voltaje hasta 300 V a través de una solución reguladora (amortiguadora) y a una temperatura de 10-15° C por 2-3 horas.

Antes de colocar las muestras en los geles se equilibró el sistema (pre-electroforesis) a 70 V durante 20 min.

4.3.6. Revelado de los proteinogramas

Al finalizar la electroforesis se remueven los geles de sus tubos y se les sumerge en el fijador durante 30 min, después de lo cual se tiñeron en el

colorante descrito, por 2-3 horas, eliminando a continuación el exceso de este colorante mediante baños de la solución para este objeto. Al término de esta operación los geles (proteínogramas) quedan revelados y listos para su análisis. Los de mejor calidad se fotografiaron con película Kodak B/N y/o color.

4.3.7. Análisis de los proteínogramas

Para ser analizados, los proteínogramas se fueron almacenando conservándolos en tubos de ensaye con solución de ácido acético al 7% y glicerina, hasta completar todos los geles correspondientes a cada muestreo (Fig. 9).

4.3.7.1. Movilidad electroforética de las fracciones protéicas

La distancia de migración de las fracciones protéicas se obtuvo dividiendo su distancia recorrida (d) entre la distancia total recorrida por el solvente (D) y se multiplicó por cien, con lo que se tiene el $R_f\%$ de cada fracción (Tabla 4).

4.3.7.2. Patrones electroforéticos

Los proteinogramas que resultaron semejantes en la distribución de sus fracciones protéicas se les clasificó dentro de un mismo grupo 0 patrón electroforético (Fig. 11).

4.3.7.3. Cuantificación de las proteínas

Para cuantificar las proteínas de las fracciones protéicas se obtuvieron las lecturas de densidad óptica en forma gráfica mediante Densitómetro (E-C Apparatus). Se pesaron los densitogramas (Fig. 10), y cada uno de sus picos con lo que se realizó el cálculo correspondiente obteniéndose la densidad óptica relativa (Tabla 5).

4.3.7.4. Análisis matemático de la información

Los resultados que se reportan en la Tabla 4 fueron agrupados por proteínas iguales en su $R_f\%$ (Tabla 6), lo cual se complementa con el análisis de grupo

(Cluster Análisis) por el método de ligazón sencilla (Sokal y Rohlf, 1962, mencionado por Everitt, 1977), el cual se basa en las distancias euclidianas que hay entre pares de organismos X, Y (Gráfica 2).

5. RESULTADOS

En total se analizaron 401 ejemplares de sardina *crinuda* de las cuales 320 resultaron de la especie *O. libertate* (Fig. 4), 81 organismos de *O. medirastre* y ninguno de la especie *O. bulleri*, de acuerdo a las características morfológicas y merísticas señaladas por el método de Berry y Barret. Para el estudio citogenético se emplearon 103 sardinas y los restantes se procesaron mediante **electroforesis**, como se puede apreciar en la tabla 1.

Para analizar los cromosomas del tejido gonadal fué necesario examinar el aparato reproductor de los ejemplares con el fin de tomar la muestra más adecuada.

5.1. Breve descripción del aparato reproductor

El aparato reproductor en O. libertate y O. medirastre es muy similar. Esta es la primera descripción que se hace del aparato reproductor de **sardina crinuda** de B.C.S.

El aparato reproductor masculino en las dos especies consta de dos **testículos** aplanados, de color blanco, con una ondulación subapical (Fig. 5b) al alcanzar la madurez **adquieren** un color rosa pálido, aumentando considerablemente su volumen, pero uno siempre es más voluminoso que otro. Cada testículo consta de un conducto propio, pero se unen en uno solo, antes de llegar al orificio genital.

Respecto del aparato reproductor femenino, Opisthonema libertate y O. medirastre, no mostraron diferencias morfológicas. Los ovarios son ligeramente tubulares o **subcilíndricos** terminados en forma cónica en el extremo anterior (Fig. 5a). Su color varía según su etapa de madurez, desde el color rosa grisáceo hasta un color anaranjado. Ca-

da ovario termina en un conducto corto (oviducto), los cuales se unen antes de llegar al poro genital.

En una gónada femenina se pueden encontrar varios grupos de ovocitos en diferentes etapas de madurez; dependiendo de su estado de desarrollo, la longitud y volumen de una gónada varia notablemente entre un estadio y otro.

Las observaciones realizadas en el aparato reproductor de las dos especies de Opisthonema concuerdan con lo descrito por Marshall (1975) para otros teleosteos y se complementan con lo encontrado por Páez-Barrera (1976) en Opisthonema libertate de las costas de Sinaloa.

5.2. Citogenética

Como resultados del estudio citogenético se presentan las observaciones del proceso de la meiosis y se da la descripción preliminar de los cariotipos de Opisthonema spp.

5.2.1. M e i o s i s

Del examen microscópico de las laminillas elaboradas con tejido gonadal masculino de organismos ju-

veniles (Ij, según la escala de Nikolskii (1961), se observó que la mayoría de las células se hallaban en etapa de proliferación; y otros dos tipos de células, unas grandes con núcleos ovoides levemente teñidos identificados como espermatocitos primarios que inician la meiosis y otras pequeñas con núcleos esféricos fuertemente teñidos, que corresponden a las espermatogonias (Fig. 6a). En ejemplares de madurez II (según misma escala de madurez) fué más frecuente encontrar las primeras etapas de la espermatogénesis (Figs. 6a, 7a). En las muestras de organismos de madurez III se observaron etapas más avanzadas de este proceso (Figs. 6b, 7b), encontrándose además numerosas espermatogonias en interfase celular. La espermateliosis (Figs. 6b, 7b) y los espermatozoides (Figs. 6c, 7c) también se observaron en organismos de madurez IV.

5.2.2. C a r i o t i p o s

Los valores encontrados para el complemento haploide son constantes e igual a 24 cromosomas. Las figuras en prometafase 1 (Fig. 8b) indican la presencia de cromosomas bivalentes corroborando

que el cariotipo de Opisthonema spp (Fig. 8a,b) está formado por 24 pares de cromosomas homólogos. No se identificaron figuras heteromórficas que indiquen la presencia de cromosomas sexuales, en vista de que la tinción empleada no reflejó heteroploidosis.

El análisis preliminar de figuras mitóticas en tejido gonádico permitió comprobar lo indicado por la meiosis respecto a rasgos fundamentales (Tablas 2 y 3), tales como el número diploide de $2n = 48$ cromosomas, el número fundamental ($NF = 56$) y la morfología de los cromosomas los cuales son de dos clases: ocho submetacéntricos y el resto acrocéntricos.

5.3. Estudio electroforético

Los resultados del análisis bioquímico (electroforético) de las proteínas musculares solubles de O. libertate y O. medirastre se obtuvieron de 151 ejemplares colectados en la Bahía de La Paz y 147 ejemplares de Bahía Magdalena, Baja California Sur. Al ser identificados se encontraron los resultados siguientes:

ESPECIE	BAHIA DE LA PAZ	BAHIA MAGDALENA	TOTAL
<u>O. libertate</u>	140	99	239
<u>O. medirastre</u>	11	48	59
T O T A L	151	147	298

5.3.1. Electroforegramas de las proteínas musculares hidrosolubles

La fracción soluble obtenida del músculo epiaxial de las sardinas crinudas tuvo una concentración promedio de 35 mg/ml, lo cual se estimó por el método de Lowry et al., 1951.

La separación electroforética de estas muestras reveló la existencia de seis diferentes patrones en O. libertate y seis en O. medirastre (Fig. 11, Tabla 4).

A continuación se explica con más detalle los resultados de la Tabla 4, por lo que es importante señalar el estado fisiológico de los organismos ya que afecta los resultados en los patrones electroforéticos obtenidos.

El proteinograma Núm. 1 contiene cinco fracciones protéicas, se presenta en machos II y III de Opisthonema libertate y en machos II de O. medirastre de ambas localidades, no se hallaron machos III de esta especie. El patrón Núm. 2 se obtuvo de ejemplares hembras II y III de ambas especies, reveló hasta nueve fracciones protéicas. De organismos juveniles de sexo indiferenciado y machos VI de las dos especies y localidades en estudio, se obtuvo el patrón Núm. 3, el cual mostró hasta 7 fracciones.

El patrón Núm. 4 contiene nueve fracciones bien definidas; se encontró en la mayoría de los juveniles (de sexo indiferenciado) y en hembras VI de las dos especies. El patrón Núm. 5 se presentó en ejemplares machos de madurez IV de O. libertate y hembras III de O. medirastre: no se hallaron ejemplares machos IV de esta última especie. Este patrón muestra ocho fracciones protéicas. El patrón Núm. 6 lo presentaron hembras IV de ambas especies estudiadas, también se le contaron ocho fracciones.

La densidad óptica relativa de las fracciones protéicas más importantes (expresadas en %) se da en

la tabla 5 y fué calculada a partir de los densitogramas obtenidos (en Densitómetro E-C) para cada gel, observándose variación cuantitativa entre fracciones semejantes, según el sexo y madurez de los ejemplares.

El análisis de grupos (Cluster) realizado entre las fracciones protéicas semejantes dió por resultado el dendrograma de la gráfica 2.

6. D I S C U S I O N

Aunque no fue el objetivo de este estudio, se confirmó que O. libertate es la especie de sardina crinuda que más se captura en las costas de Baja California Sur, hasta una proporción aproximada de 2:1 con respecto a O. medirastre (Figs. Ia y Ib), en tanto que O. bulleri no se encontró. Lo anterior concuerda con los datos reportados por Estrada García et al., (1986) del Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Guaymas, Sonora, para las costas de Sonora. Sin embargo, en las costas de Sinaloa la especie O. bulleri se captura abundantemente. Cisneros Mata et al., (1982) citados por Rodríguez Domínguez (1986) confirman la presencia de las tres especies de Opisthonema del Pacífico Mexicano (O. libertate, O. medirastre y O. bulleri) en las capturas que se descargan

en Mazatlán, Sinaloa. Con esta información pudiera pensarse que O. bulleri es una especie confinada a regiones tropicales, lo que difiere con Rodríguez-Sánchez (1985-1989), quien sí capturó O. bulleri en las costas de Baja California Sur. Este mismo autor, mediante dos métodos (método tridimensional y método de densidad de branquiespinas) para discriminar las especies de Opisthonema, observó que, en general, la distribución modal del carácter (número de branquiespinas) en O. medirastre es muy cercana a la de O. libertate, lo cual, dificulta dicha discriminación entre estas dos especies; en cambio O. bulleri presenta una distribución modal claramente separada de las otras dos, por lo que no queda ninguna duda de que O. bulleri es una especie distinta de O. libertate y O. medirastre.

Por lo anterior y por no haberse capturado O. bulleri, en las costas de Baja California Sur, el problema taxonómico de Opisthonema, para los fines de este trabajo, se replantea solamente entre O. libertate y O. medirastre.

En el análisis citogenético que se aplicó, después de ensayar diversas técnicas que son comunes en este tipo de estudios (p. ej. Denton y Howell, 1969; Mayers y Roberts, 1969; McPhail y Jones, 1966; entre otros autores), 'se encontró que la metodología que dió mejores resultados, dadas las condiciones ecológicas de la sardina

crinuda, fué la de Capanna y Cataudella (1972) con modificaciones señaladas por Readdy y John (1987).

Como ya se mencionó, el cariotipo encontrado para ambas especies de Opisthonema está formado por $2n = 48$ cromosomas, cuatro pares son submetacéntricos y el resto acrocéntricos, con base en la posición del centrómero según clasificación dada por Levan et al., 1964, (Tablas 2 y 3). El número de cromosomas y el hecho de que la mayoría sean acrocéntricos concuerda con lo hallado por diversos autores en teleosteos (Cano et al., Thode et al., 1983; Uyeno et al., 1983; Murofushi et al., 1984). Por otro lado, Ohno y Atkin (1966) y Ohno (1970) consideran que el cariotipo ancestral de los teleosteos contiene $2n = 48$ cromosomas y que todos son acrocéntricos.

Suele ocurrir que entre especies de un mismo género el número de cromosomas sea totalmente diferente como es el caso de 'Mugil cephalus = 48 cromosomas) y M. curema ($2n = 48$ cromosomas), reportados por LeGrande y Fitzsimons, 1976 (Tabla 3).

Aunque en este trabajo no se observaron cromosomas sexuales, no significa que no existan, sino que se ha demostrado que en varias especies de peces es difícil distinguirlas; como en especies de peces sparoides (Sparidae) estudiados por, Murofushi et al., (1983a) en los que no se pudo definir si un par de cromosomas

heteromórficos eran cromosomas sexuales. Sin embargo, otros autores mencionan este tipo de cromosomas en peces góbidos del Mediterráneo (Thode et al., 1983; Murofushi et al., 1983b), revelando la existencia de un mecanismo de cromosomas sexuales múltiples (cuatro cromosomas X en las hembras y X1 X2 - Y en machos) en dos especies de peces del género Callionymus ("pez dragón"). Como en este trabajo no fué posible identificar cromosomas sexuales con la metodología empleada, se recomienda utilizar otros métodos a fin de llegar a su identificación.

Existen técnicas de electroforesis muy resolutivas, como la que emplearon Hedgecok et al., (1988), que, mediante el revelado de las proteínas enzimáticas (isoenzimas), dan importante información respecto a la cantidad de organismos homocigóticos y heterocigóticos que integran una muestra poblacional, con lo que, aplicando el principio del equilibrio Hardy-Weinberg, es factible estimar una medida de la variación genética de la población en estudio, con base en su heterocigosidad (Ayala y Kiger, 1984).

Dichos autores señalan haber encontrado bastante similitud genética (Nei, 1971) entre O. libertate, O. medirastre y O. bulleri, y consideran que las divergencias morfométricas y bioquímicas observadas pueden ser atributos del nivel específico, por lo que validan las tres especies de Opisthonema del Pacífico Mexicano descritas por Berry y Barret (1963).

Se considera que la técnica de electroforesis empleada, en el presente trabajo fue un valioso recurso que permitió conocer la variación protéica del tejido muscular de Opisthonema, con base en la cual se pudo apreciar una gran similitud entre las dos poblaciones estudiadas.

Lo anterior concuerda con Taniguchi y Nakamura (1970), quienes señalaron que comparando los electroforegramas en los cuales se visualizan todas las proteínas solubles mediante tinción no específica, es una técnica menos informativa pero que sin embargo, proporciona evidencia suficiente para tomar decisiones taxonómicas substanciales.

La comparación de los patrones electroforéticos de 0. libertate y 0. medirastre permitió establecer que son elementos de una sola especie, dado que presentan la misma variación intraespecífica, lo cual se pudo comprobar mediante densitogramas (Fig. 10, Tabla 5) de los mismos, y se corroboró con el análisis matemático que se realizó con la información obtenida (Tabla 6, y Gráfica 2). Dicha variación intraespecífica puede atribuirse al estado fisiológico de madurez y al sexo de los organismos, ya que otros autores (Kelling et al., 1985) así lo han explicado al realizar electroforesis discontinua en gel de poliacrilamida en peces.

7. CONCLUSIONES

- 7.1. Por los resultados obtenidos en el análisis cariológico se puede afirmar que 0. libertate y 0. medirastre **aparentemente, constituyen** una misma entidad taxonómica por lo que pudieran ser **consideradas** como razas de una misma especie, en virtud de que sus juegos cromosómicos son semejantes.
- 7.2. Según el análisis electroforético no se observó variación relevante de las **proteínas** musculares solubles que avale la presencia de dos especies, ya que la variación **intra-específica observada** en 0. libertate es equivalente a la de 0. medirastre y se puede atribuir al **estado fisiológico** de los **organismos**.

8. I L U S T R A C I O N E S

- FIG. 1. Localización geográfica de las áreas de colecta de los ejemplares, en Baja California Sur.
- FIG. 2. Localización de las estaciones de muestreo, en Bahía Magdalena, B.C.S.
- FIG. 3. Localización de las estaciones de muestreo, en la Bahía de La Paz, B.C.S.
- FIG. 4. Ejemplares macho y hembra (IV) de sardina crinuda.
- FIG. 5. Gónadas masculinas y femeninas de sardina crinuda, en tres ejemplares de madurez: II, III y IV, respectivamente; según escala de Nikolskii (1961).
- FIG. 6. Espermatogénesis de Opisthonema libertate (a, b y c).
- FIG. 7. Espermatogénesis de Opisthonema medirastre (a, b y c).
- FIG. 8. Cariotipos de Opisthonema spp (a y b).
- FIG. 9. Proteinogramas, en el gel de poliacrilamida al 7.7% de Opisthonema spp.
- FIG. 10. Proteinogramas y su registro en Densitómetro (E-C Apparatus Corporation): a) O. libertate y O. medirastre (♀ VI). b) O. libertate (♀ IV), O. medirastre (♂ III).
- FIG. 11. Patrones electroforéticos de O. libertate y O. medirastre.

- TABLA 1. Cantidad de organismos estudiados según su especie, localidad y técnica aplicada.
- TABLA 2. Descripción del cariotipo de Opisthonema spp.
- TABLA 3. Datos cariológicos de cuatro especies de peces.
- TABLA 4. Fracciones protéicas de O. libertate y O. mediras-
tre de ambas localidades.
- TABLA 5. Densidad óptica relativa, expresada en %, de las fracciones más importantes, en las dos especies de Opisthonema.
- TABLA 6. Fracciones protéicas agrupadas con base en su semejanza de Rf%.

GRAFICA 1. Curva de calibración estándar de albúmina bovina para estimar la concentración protéica de los extractos musculares de sardina crinuda, según el método de Lowry et al., (1951).

GRAFICA 2. Similaridad (distancia euclidiana) entre los seis patrones electroforéticos.

9. BIBLIOGRAFIA

- AYALA, F.J. y J. A. KIGER, Jr. 1984. Genética Moderna. Primera Edición. Fondo Educativo Interamericano. Barcelona, España, pp. 496-523.
- BAKUN, A. and N. GRAIG, S. 1977. Climatology of upwelling related processes off B. California. Report. Report CalCOFI. Vol. XIX. Oct. 1977, pp. 107-127.
- BERRY, F.H. e l. BARRET. 1963. Análisis de las branquiespinas y denominación de las especies del arenque de hebra Opisthonema. Comisión Interamericana del Atún Tropical. La Jolla, Ca. Bol. No. 2. Vol. VII: 111-190.
- BERTHELEMY, N.J. 1978. Contribution a'l 'etude de la genetique des populations de Pandalus danae, P. jordani et P. platycerus (Crustacea-Decapodes) des cotes de California. These Doctorat. Universite D'Aix-Marseille, 119 p.
- CAPANNA, E. and S. CATAUDELLA. 1972. Chromosome complements of three species of Mugilidae (Pisces: Perciformes). Experientia (12): 33.
- CANO, J., G. THODE and M.C. ALVAREZ. 1982. Karyoevolutive considerations in 19 teleost fishes. Vie et Milieu. 32(1): 21-24.
- CERVANTES-DUARTE, R. y R. GUERRERO-GODINEZ. 1987. Variación espacio-temporal de nutrientes en la Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nal. Autón., México. (En prensa).
- CHAVEZ, H. 1985. Aspectos biológicos de las lisas (Mugil spp) de la Bahía de La Paz, B.C.S., México, con referencia especial a juveniles. Invest. Mar. CICIMAR, 2(2): i-22.

- CORZO, J., RIOL-CIMAS y E. MELENDEZ-HEVIA. 1984. Fish species identification by electrophoresis of muscle proteins in sodium dodecyl sulfate containing Polyacrilamide slab gels. Electrophoresis 5: 168-170.
- DENTON, T.E. and W.M. HOWELL. 1969. A technique for obtaining chromosomes from the scale epithelium of teleost fishes. COPEIA. 6 9 (2): 392-393.
- DENTON, T.E. 1973. Fish chromosome methodology. Springfield, III. Charles C. Thomas. 166 p.
- DIEZEL, W.G., KOPPERSKLAGER and HOFMANN. 1972. An improved procedure for protein staining in polyacrilamide gels with a new type of coomasie brilliant ble. Anl. Biochem. 48: 617-622.
- ESPINOSA, A.J. 1977. Los principales parámetros físico-químicos de las aguas de la Ensenada de La Paz, B.C.S. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB). Informe de Labores 1977 : 5-27.
- ESPINOSA, G., M.J. LLINAS y E.S. AMADOR. 1979. Bentos In: Estudio ecológico comparativo de las Lagunas Enfermería y Balandra y el Canal de Mareas Zacatecas, en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. In: Memorias, Nov.ta Reunión de CIBCASIO, La Paz, B.C.S. 1979. Sin paginación.
- ESTRADA-GARCIA, J., M.A. CISNEROS, P. SANTOS, A. GODINEZ y C. ALVARADO. 1986. "Informe de la pesquería de sardina oscuro, Número 5, del 1-18 Feb. de 1986". Bol. Inf. Núm. 7, -CRIP de Guaymas, Son., m . Sin paginación.
- EVERITT, B. 1977. Cluster Analysis. Heinemann Educational Books. London. 122 p.
- FELIX-PICO, E. 1976. Estudios bioecológicos. Informe Final. Residencia de Acuicultura. Sría Rec. Hidr., La Paz, B.C.S. Sin paginación.

- FUNES-RODRIGUEZ, R. y A. ESQUIVEL-HERRERA. 1985. Determinación de las principales características que permiten la identificación de las larvas de Opisthonema spp en la costa del Pacífico de B.C.S. Inv. Mar. CICIMAR. Z(2): 77-85.
- GARCIA, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Univ. Autón. México. pp. 246.
- GUTIERREZ, H.C. y M.A. PADILLA. 1974. Distribución de huevos y larvas de sardina monterrey y larvas de sardina crinuda en el Golfo de California, 1973. Inst. Nal. de Pesca. INP/SC: 5. 24 p.
- HEDGECOCK, D., K. NELSON and L.G. LOPEZ-LEMUS. 1988. Biochemical genetic and morphological divergence among three species of thread herring (Opisthonema) in northwest Mexico. CalCOFI Rep., 29: 110-121 p.
- KELING, W., Z. PEIJUN and T. QING. 1985. Studies on the interspecific differences of myogen and cluster of the genus Fuga demia sinica. Qingdao. Página Unica.
- LAGLER, K.F., J.E. BARDACH, R.R. MILLER y D.R. MAY PASSINO. 1984. Ichtiología. Primera edición en español. AGT. Editor, México. pp. 9-49.
- LeGRANDE, W.H. and J.M. FITZSIMONS. 1976. Kariology of the mullets Mugil curema and M. cephalus (Perciformes: Mugilidae) from Louisiana. COPEIA, 1976 (2): 388-391.
- LEVAN, A., K. FREDGA and A.A. SANDBERG. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.
- LOPEZ-LEMUS, L.G., 1986. Genetic relationships of the different morphotypes of the clupeid fish Opisthonema spp in the west coast of Baja California and the Gulf of California. Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Abstracts, Annual Conference, 21-23 October, 1986.

- LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR and R.J. RANDALL. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- MARSHALL, N.B. 1975. The life of fishes. Fourth Printing. Universe Books, Ed. N.Y. City. pp. 245-259.
- MAURER, H.R. 1971. Disc Electrophoresis and Related Techniques of Polyacrilamide gel electrophoresis. Second Edition. Walter de Gruyter. Berlin. New York. 222 p.
- MAYERS, L.J. and F.L. ROBERTS. 1969. Chromosomal homogeneity of live populations of alewives. Alosa pseudoharengus. COPEIA: 1969 (2): 313-317.
- McPHAIL, J.D. and R.L. JONES. 1966. A simple techniques for obtaining chromosomes from teleost fishes. J. Fish. Res. Bd. Canada, 23 (5): 767-768.
- MORGAN II, R.P. Nad N.I. ULANOWICZ. 1976. The frequency of muscle protein polymorphism in Menidia menidia (Atherinidae) along the Atlantic Coast. COPEIA, 1976, (2): 356-360.
- MOTA-ALVES, M.I. y P. SAWAYA. 1975. Sobre a reproducao da Sardine Bandeira Opisthonema oglinum (Le Sueur) na costa do estado Caera (Brasil). Arg. Cien. Mar. 15(1): 19-28.
- MUÑOZ-SEVILLA, N.P. 1982. Contribution a l'étude de l'hémolymphe de penaeus kerathurus et P. japonicus (Crustacés-Decápodes). These Doct. Fac. Sci. Marseille. 141 p.
- MUROFUSHI, M., S. NISHIKAWA and T.H. YOSIDA. 1983. Cytogenetical studies on fishes. IV. Karyotypes of six species in the sparoid fishes. J. Genet. (58): 361-367.
- MUROFUSHI, M., S. NISHIKAWA and T.H. YOSIDA. 1983. Cytogenetical studies on fishes. V. Multiple sex chromosomes mechanism (XX-Y) found in two Dragonet fishes. Japan Academy. Serie B. No. 3 (59): 58-61.

- MUROFUSHI, M., S. NISHIKAWA and T.H. YOSIDA. 1984. Cytogenetical studies on fishes. IX. Kariological Comparison of Two Species in Snipefishes. J. Genet. (59): 155-158.
- NEI, M. 1971. Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity. The American Naturalist, Chicago, Illinois. 105(945): 385-398.
- NIKOLSKII, G.V. 1961. Special Ichtiology. Israel Program for Scientific Translations, Ltd. Jerusalem. 352 p.
- OHNO, S. y ATKIN, N.B. 1966. Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. Chromosome (Berl.), (18): 455-466.
- OHNO, s. 1970. The enormous diversity in genome sizes reflection of nature's extensive experiments with gene duplication. Trans. Amer. Fish. Soc. 99(1): 120-130.
- PAEZ-BARRERA, F. 1976. Desarrollo gonadal, madurez, desove y fecundidad de sardina crinuda Opisthonema libertate (Günther) de la zona de Mazatlán, basados en el análisis histológico de la gónada. Mem. del Simp. sobre Recurs. Masivos de México. Ensenada, B.C. (2): 207-264.
- PEDRIN, O.O. y A. ANCHEITA. 1976. Estadísticas básicas de la explotación de la sardina en el noroeste de México. Inst. Nal. Resca, INP/SI; 79: 1-11.
- READDY, P.V.G.K. and JOHN, G. 1987. "A method to increase mitotic metaphase spreads studies in fishes". In: Klaus Tiews (Ed.) "Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture" From: Proc. World Symp. on Selection, Hybridi-

- TORRES-VILLEGAS, J.R., G. GARCIA-MELGAR, R.I. OCHOA-BAEZ y V.A. LEVY-PEREZ. 1985. Parámetros reproductivos de las poblaciones de Opisthonema libertate (Günther) (Pisces: Clupeidae) y discusión sobre la evaluación por producción de huevos, en Bahía Magdalena, B.C.S., México. Inv. Mar. CICIMAR, 1985. **2(2)**: 45-58.
- UTTER, F.M., H.O. HODGINS and F.W. ALLENDROF. 1974. Biochemical Genetic Studies of **Fishes**: Potentialities and limitations. In. Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology. Edited by D.C. Malins and J.R. Sargent. London, **Academic Press**, Vol. 1: 213-237.
- UYENO, T., R.R. MILLER and J.M. FITZSIMONS. 1983. Kariology of the Cyprinodontoid **Fishes** of the Mexican Family **Goodeidae**. COPEIA, 1983, (2): 497-510.
- VILLAMAR, C.A. 1965. Fauna malacológica de la Bahía de La Paz, B.C.S., con notas ecológicas. Anales INIBP, 1: 113-152.
- VROOMAN, A.M. and P.A. PALOMA. 1975. Subpopulations of Northern **Anchovy** Engraulis mordax mordax. Administrative Report No. U-75-62. From **Anchovy** workshop meeting. **Southwest Fisheries Center**. July 21-22, 1975. La Jolla, Ca. 10 p.
- WRIGHT, D., H.H. ROBERT, J.M. COLEMAN, R.L. KUPFER and L.W. BOWDEN. 1973. Process-Form variability of multiclass **coast**: Baja California. Technical Report No. 137.
- WYLLIE, J.G. 1966. Geostrophic Flow of the California Current at the Surface and at 200 **meters**. CalCOFI Atlas No. 4. pp. 1 - 288.
- YAMANAKA, H., K. YAMAGUCHI and F. MATSURA. 1965. Starch gel electrophoresis of fish hemoglobins. 1. Usefulness of **cyanmethemoglobin** for the electrophoresis. Bull. Japan Soc. Sci. Fisheries (31), pp. 827.

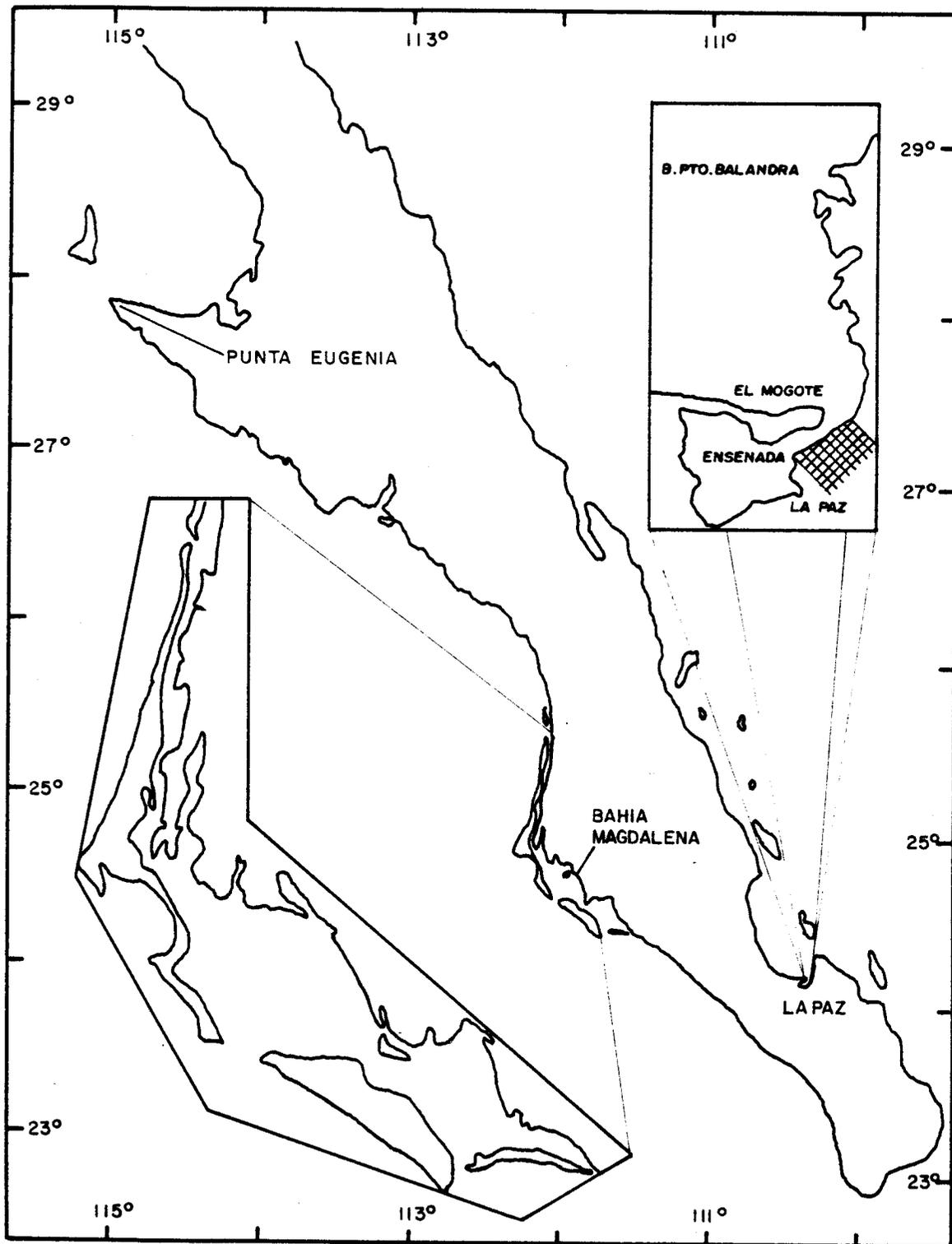


FIG. 1. LOCALIZACION GEOGRAFICA DE LAS AREAS DE COLECTA DE LOS EJEMPLARES EN BAJA CALIFORNIA SUR.

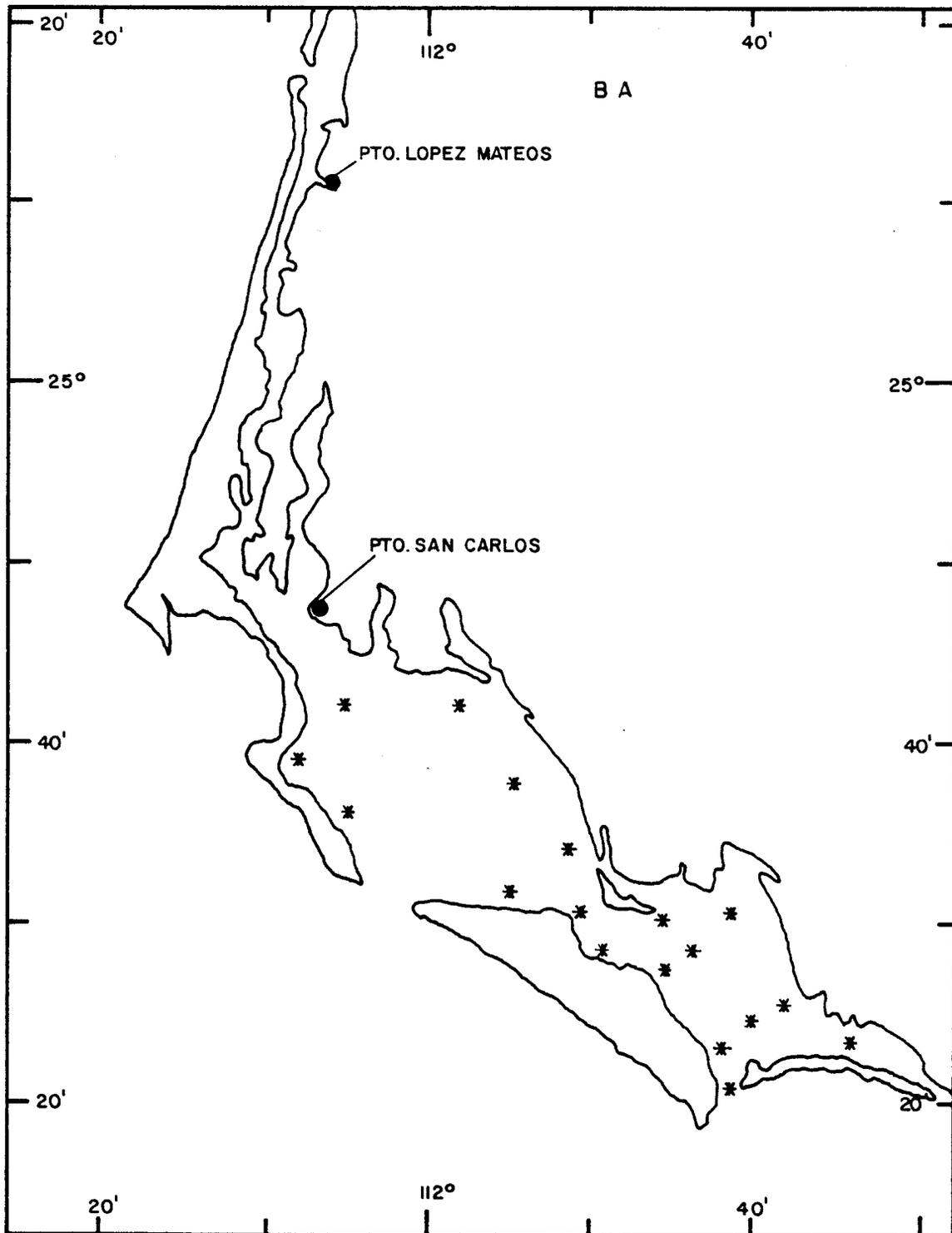


FIG. 2. LOCALIZACION DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO, EN BAHIA MAGDALENA, B.C.S.

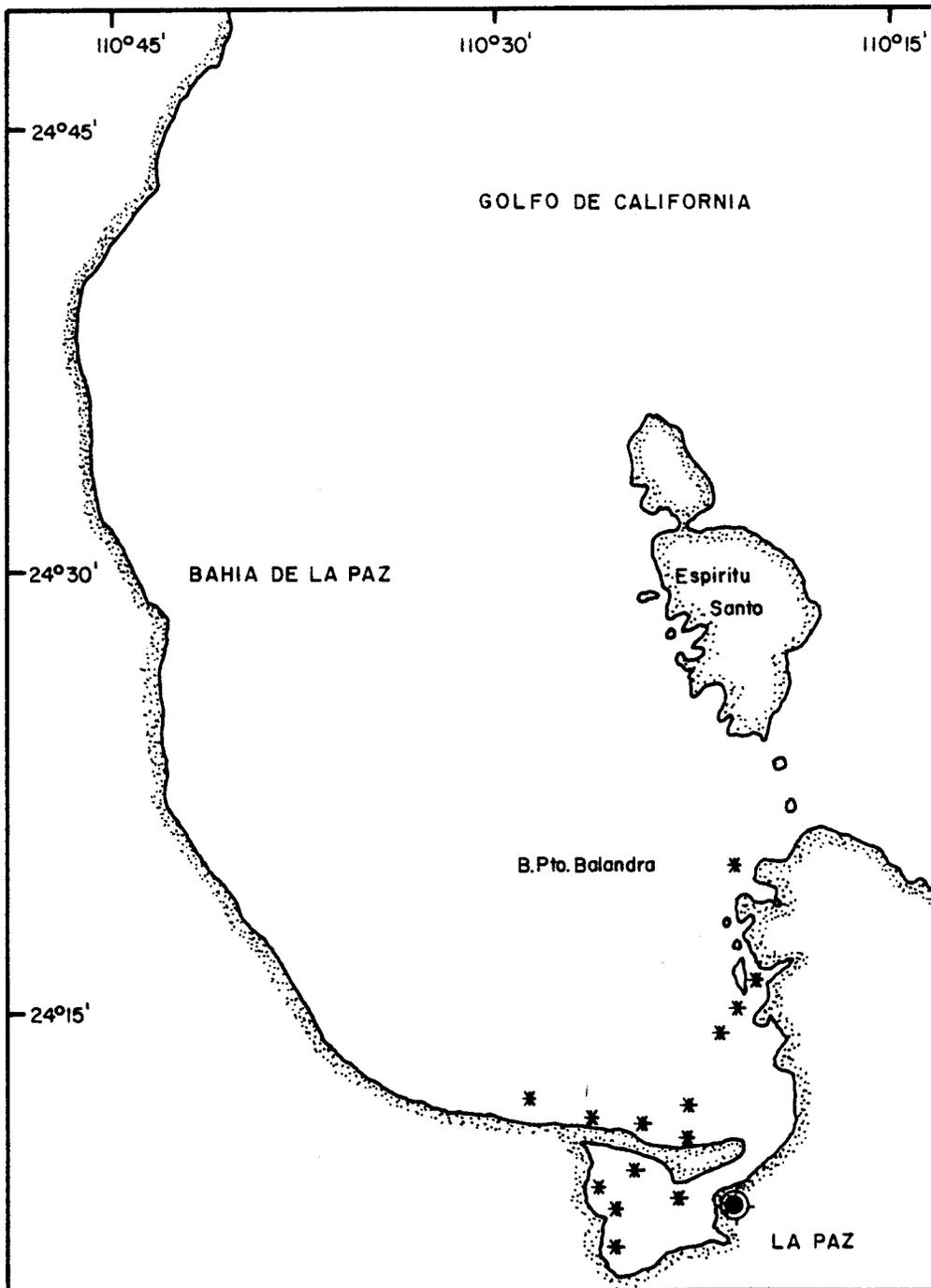


FIG. 3. LOCALIZACION DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO, EN LA BAHIA DE LA PAZ, B.C.S.

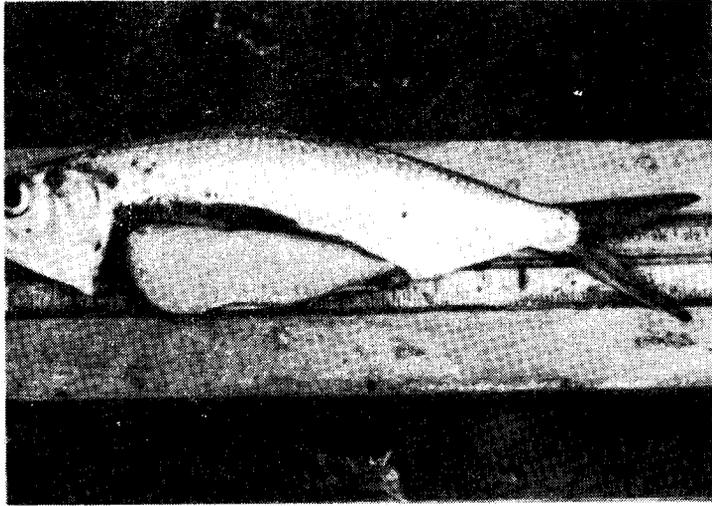


FIG. 4a. MACHO IV DE Opisthonema spp.

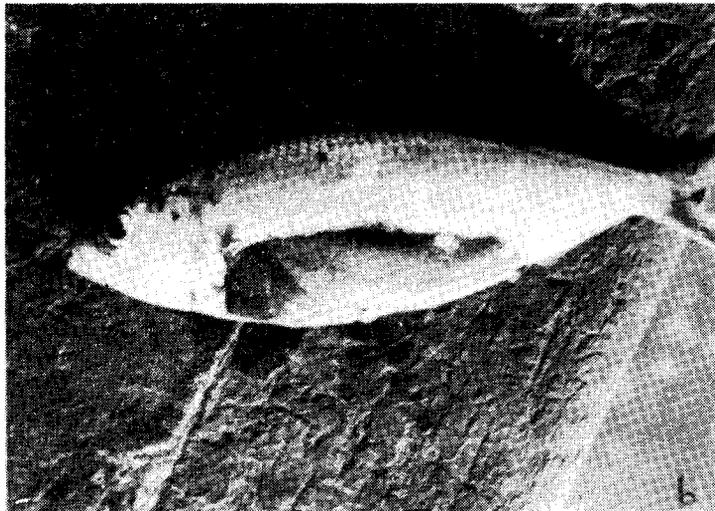


FIG. 4b. HEMBRA IV de Opisthonema spp.

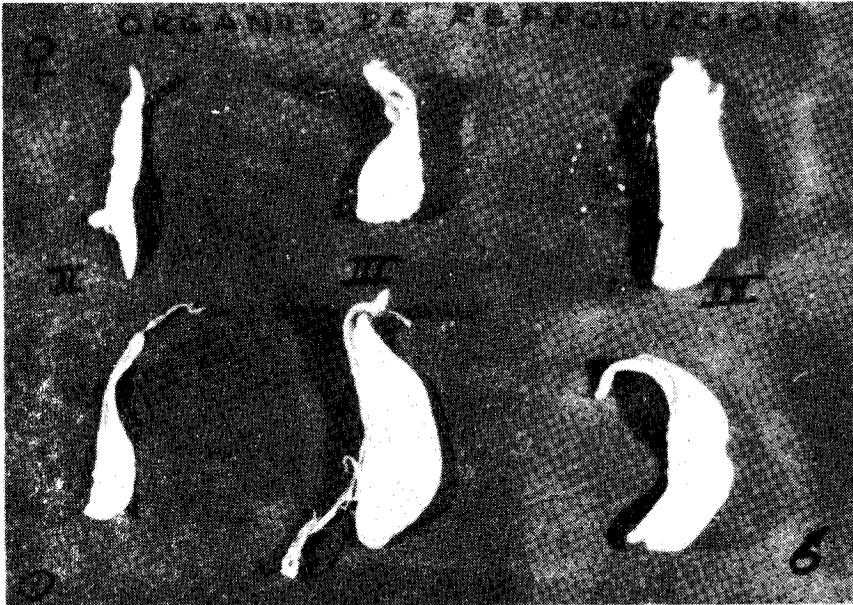
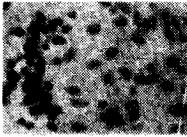
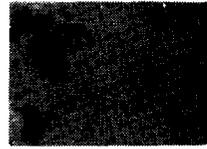


FIG. 5. (a,b). GONADAS FEMENINAS(a) Y MASCULINAS (b), EN TRES ETAPAS DE MADURACION (según la escala de Nikolskii, 1961).



a) Espermatogonias
y espermatocitos
primarios



b) Espermateliosis



c) Espermatozoides

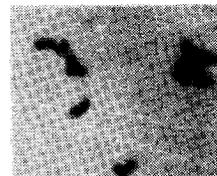
FIG. 6. ESPERMATOGENESIS DE O. libertate (a,b,c,)



a) Cromosomas en meta-
fase de meiosis I



a) Espermateliosis



c) Espermatozoides

FIG. 7. ESPERMATOGENESIS DE O. medirastre (a,b,c,)

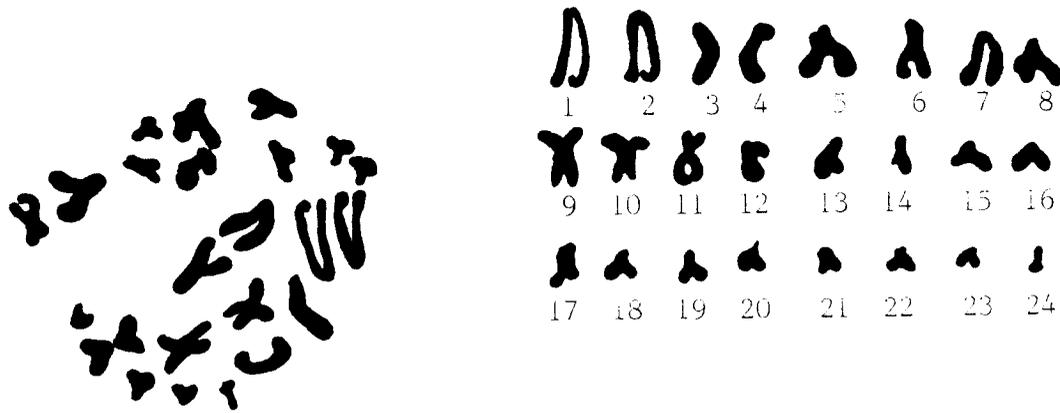


FIG. 8a. ESQUEMA DE CROMOSOMAS BIVALENTES EN PROMETAFASE I, DE Opisthonema libertate Y SU CARIOTIPO.

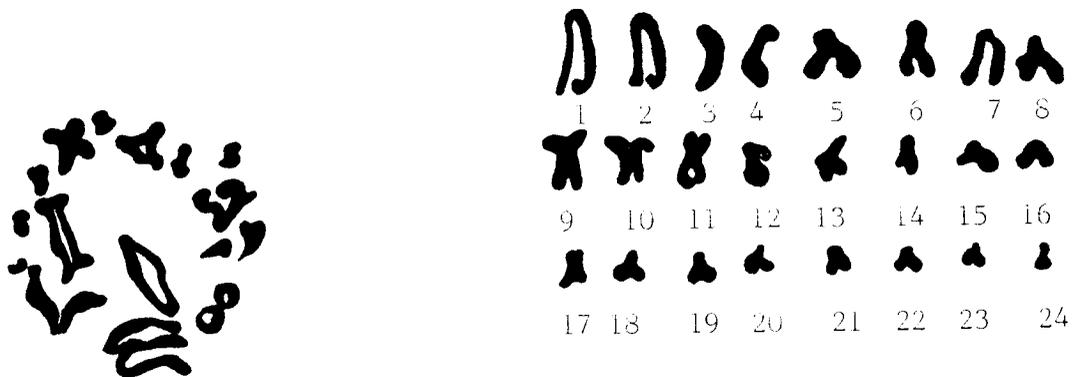


FIG. 8b. FIGURA CROMOSOMICA DE METAFASE I INCIPIENTE, EN Opisthonema medirastre Y SU CARIOTIPO.

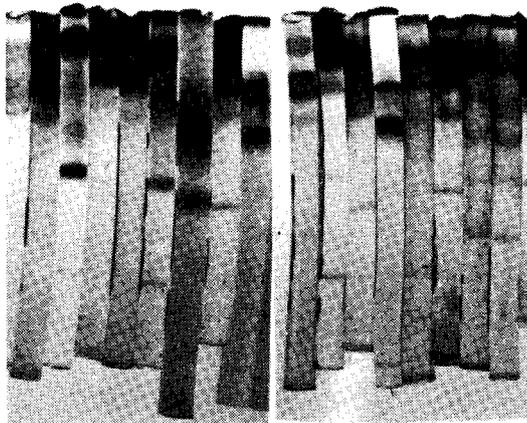


FIG. 9. PROTEINOGRAMAS DE Opisthonema spp EN GEL DE POLIACRILAMIDA.

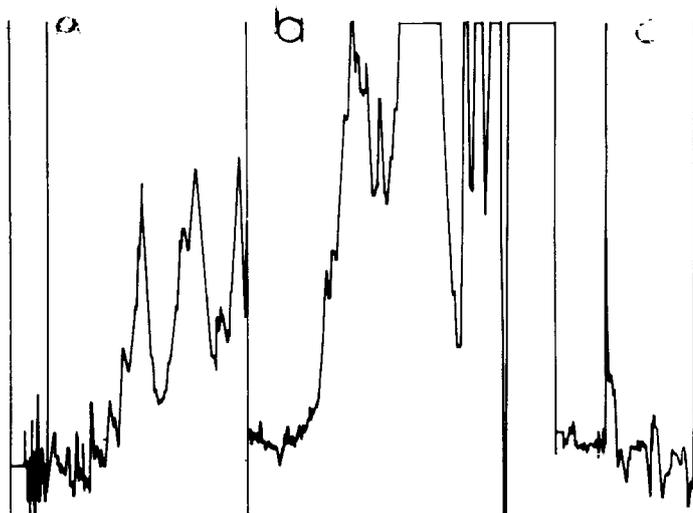


FIG. 10. PROTEINOGRAMAS Y SU REGISTRO EN DENSITOMETRO (E-C Apparatus Corporation): a) O. libertate (♀ III). b) O. medirastre (♀ VI). c) O. libertate (♂ IV).

TABLA 1. CANTIDAD DE ORGANISMOS ESTUDIADOS, SEGUN SU ESPECIE Y LOCALIDAD.

LOCALIDAD	E S P E C I E	TECNICA CITOGENE- TICA	TECNICA ELECTRO- FORETICA	TOTAL
Bahía Magdalena	<u>0. libertate</u>	61	158	219
	0. <u>medirastre</u>	19	35	54
	<u>0. bulleri</u>	0	0	0
Bahía de La Paz	<u>0. libertate</u>	17	84	101
	0. <u>medirastre</u>	6	21	27
	0. <u>bulleri</u>	0	0	0
T O T A L		103	298	401

TABLA No. 2 . DESCRIPCION DEL CARIOTIPO DE Opisthonema spp.

CROMOSOMAS BIVALENTES	P	Q	l.t.	I.C.(%)	R.A.	TIPO DE CROMOSOEIA (Leván et al, 1964)
1	0.50	7.2	7.70	6.494	0.069	Acrocéntrico
2	0.50	6.6	7.10	7.042	0.075	Acrocéntrico
3	0.50	6.4	6.90	7.246	0.078	Acrocéntrico
4	0.25	5.1	5.35	4.672	0.049	Acrocéntrico
5	0.25	5.0	5.25	4.761	0.050	Acrocéntrico
6	0.24	5	5.24	4.580	0.048	Acrocéntrico
7	0.23	4.8	5.03	4.572	0.047	Acrocéntrico
6	0.21	4.6	4.81	4.365	0.045	Acrocéntrico
9	1.8	3.0	4.80	37.50	0.600	Submetacéntrico
10	1.5	2.8	4.30	34.88	0.535	Submetacéntrico
11	1.5	2.5	4.00	37.5	0.600	Submetacéntrico
12	1.29	2.7	3.99	32.33	0.477	Submetacéntrico
13	0.09	3.9	3.99	2.25	0.023	Acrocéntrico
14	0.08	3.4	3.48	2.29	0.023	Acrocéntrico
15	0.08	2.7	2.78	2.87	0.029	Acrocéntrico
16	0.07	2.6	2.67	2.62	0.026	Acrocéntrico
17	0.06	2.6	2.66	2.25	0.023	Acrocéntrico
18	0.06	2.5	2.56	2.34	0.024	Acrocéntrico
19	0.05	2.4	2.45	2.04	0.020	Acrocéntrico
20	0.05	2.4	2.45	2.04	0.020	Acrocéntrico
21	0.05	2.2	2.25	2.22	0.022	Acrocéntrico
22	0.03	2.0	2.03	1.47	0.015	Acrocéntrico
23	0.02	1.8	1.82	1.09	0.011	Acrocéntrico
24	0.01	1.7	1.71	0.58	0.005	Acrocéntrico

L.T. = Suma de l.t. = 94.61 (Longitud total del cariotipo)

P = Longitud del brazo corto del cromosoma

Q = Longitud del brazo largo del cromosoma

l.t. = Longitud total del cromosoma = P + Q

I.C. = $\frac{P}{P+Q} \times 100$; es el índice centromérico

R.A. = Razón entre los brazos = $\frac{P}{Q}$

E S P E C I E	2N	N.F.*	ACROCEN- TRICOS	SUBTELOCEN- TRICOS	SUBMETACEN- TRICOS	METACEN- TRICOS	REFERENCIA	CROMOSOMAS SEXUALES
<u>Opisthonema libertate</u>	48	56	40		8		Este estudio	?
<u>Opisthonema medirastre</u>	48	56	40		8		Este estudio	?
<u>Mugil cephalus</u>	48	48	48			-	LeGrande y Fitzsimons, 1976	?
<u>Mugil curema</u>	28	52	4	4	-	20	LeGrande y Fitzsimons, 1976	?

* Número Fundamental

TABLA N.º 3. DATOS CARIOLOGICOS DE CUATRO ESPECIES DE PECES.

TABLA 4. FRACCIONES PROTEICAS Y SU Rf% (Opisthonema spp)

P A T R O N ELECTROFORETICO	FRACCION PROTEICA	BAHIA MAGDALENA		BAHIA DE LA PAZ	
		MIGRACION REL. x 100 (Rf%) de <u>0.</u> <u>libertate</u>	MIGRACION REL. x 100 (Rf%) de <u>0.</u> <u>medirastre</u>	MIGRACION REL. x 100 (Rf%) de <u>0.</u> <u>libertate</u>	MIGRACION REL. x 100 (Rf%) de <u>0.</u> <u>medirastre</u>
Núm. 1 D = 14.2 cm ♂ II, III	C	7.04	6.2	6.9	7.02
	D	9.15	9.0	9.7	10.11
	H	17.60	16.7	18.1	17.40
	J	29.57	30.4	30.6	31.69
Núm. 2 D = 14.2 ♀ II	A	1.40	1.4		1.40
	C	7.04	6.9	6.7	6.94
	D	9.85	10.4	10.3	10.02
	F	14.08	13.9	14.0	14.21
	G	15.49	14.8	16.0	14.73
	H	17.60	17.7	17.2	17.01
	I	21.12	19.3	20.6	21.17
	J	29.57	31.4	31.0	30.91
Núm. 3 D = 14.2 ♂ VI, I	M	52.81	53.2	53.4	53.06
	A	1.40	1.4		
	C	7.04	6.5	7.1	7.06
	D	9.85	10.2	10.0	9.91
	F	14.08	14.9	13.8	13.90
	G	15.49	16.1	15.4	15.71
	H	17.60	18.0	18.2	17.69
Núm. 4 ♀ VI, 1	I	21.12	21.7	20.7	21.32
	A	1.40			1.42
	C	7.04	6.2	6.2	6.92
	D	9.85	9.8	10.1	10.02
	F	14.08	14.6	13.9	13.86
	H	17.60	18.0	18.0	17.69
	I	22.53	22.1	21.7	22.41
	K	31.69	31.8	31.6	30.73
Núm. 5 D = 14.2 ♀ III y ♂ IV	O	63.38	63.8	62.5	63.11
	Q	88.02	88.9	89.1	88.06
	A	1.40	1.4	1.4	
	C	7.04	6.9	7.0	7.03
	D	9.85	10.4	9.8	9.87
	F	14.08	13.9	14.0	14.21
	H	17.60	16.7	17.7	17.60
	I	22.53	21.6	22.5	22.56
Núm. 6 D = 14.2 ♀ IV	J	30.98	29.4	30.7	30.97
	N	54.22	53.3	53.3	54.20
	A	1.40			1.42
	B	4.92	5.2	5.6	5.08
	E	10.56	11.3	11.0	11.06
	H	17.60	18.0	18.4	17.64
	K	31.69	31.9	31.7	31.65
♀ IV	L	46.47	47.0	46.4	46.81
	M	52.81	53.2	52.5	52.56
	P	80.98	81.6	81.0	

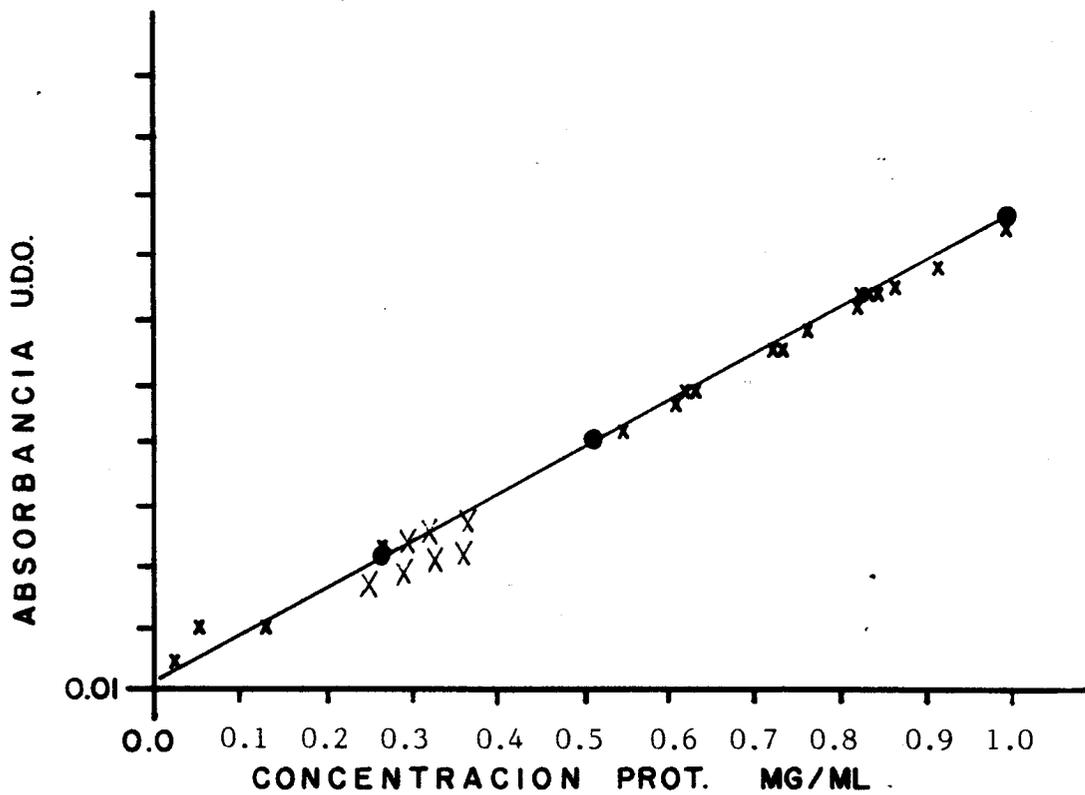
TABLA 5. DENSIDAD OPTICA RELATIVA, EXPRESADA EN %, DE LAS FRACCIONES PROTEICAS MAS IMPORTANTES, EN Opisthonema spp.

FRACCIONES	ESTADIOS DE MADUREZ SEXUAL			
	Q II-III	Q I-VI	6 II-III	♂ III-IV
A-B	-	7.10	-	-
C		7.00		
D-E	5.30	11.25	6.01	5.36
F		5.12	-	
G		16.08		
H	3.75	11.65	3.29	3.13
I-J	15.13	19.00	15.13	15.42
K	5.73	8.05	6.04	6.20
L	28.18	13.30	28.01	27.64
M	5.56	-	5.71	6.31
N	6.05	-	6.18	6.03
O	6.88	-	7.47	7.15
P	23.39	-	23.00	23.63

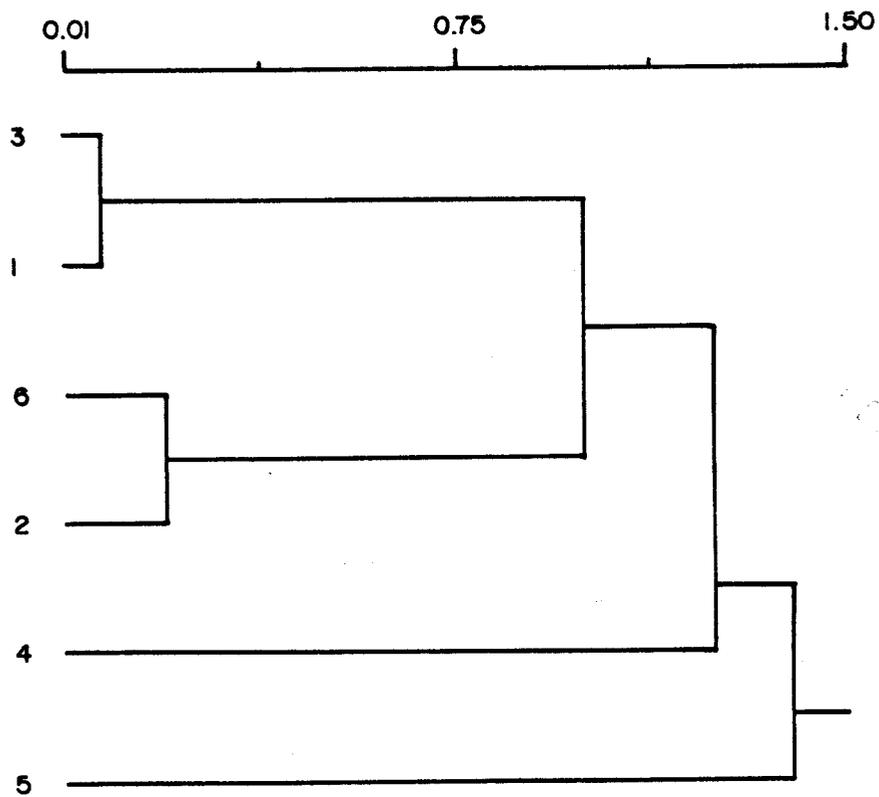
TABLA No. 6. FRACCIONES PROTEICAS (A-Q) DE AMBAS ESPECIES Y LOCALIDADES; AGRUPADAS PARA SU COMPARACION.
 (Especie 1 = O. libertate; Especie 2 = O. medirastre; Localidad 1 = Bahía Magdalena; Localidad II = Bahía de La Par, B.C.S.).

A	0.00	1.40	1.60	1.40	1.40	1.40	I.1
	0.00	1.40	1.40	1.40	1.40	0.00	I.2
	0.00	0.00	0.00	0.00	1.40	0.00	II.1
	0.00	1.40	0.00	1.42	0.00	1.42	II.2
B	7.04	7.04	7.04	7.04	7.04	0.00	1.1
	6.20	6.90	6.50	6.20	6.90	0.00	1.2
	6.90	6.70	7.10	6.20	7.00	0.00	II.1
	7.02	6.96	7.06	6.92	7.03	0.00	II.2
C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.92	1.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.20	1.2
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.60	II.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.08	II.2
D	9.15	9.85	9.85	9.85	9.85	0.00	I.1
	9.00	10.40	10.20	9.80	10.40	0.00	I.2
	9.70	10.30	10.00	10.10	9.80	0.00	II.1
	10.11	10.02	9.91	10.02	9.87	0.00	II.2
E	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.56	1.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11.30	1.2
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11.00	II.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11.06	II.2
F	0.00	14.08	14.08	14.09	14.60	0.00	I.1
	0.00	13.09	14.08	14.08	13.90	0.00	I.2
	0.00	14.00	13.80	13.90	14.00	0.0	II.1
	0.00	14.21	13.90	13.86	14.21	0.00	II.2
G	15.49	15.40	15.48	0.00	0.00	0.00	I.1
	16.80	16.10	16.10	0.00	0.00	0.00	I.2
	16.00	15.48	15.61	0.00	0.00	0.00	II.1
	14.73	15.71	15.70	0.00	0.00	0.00	II.2
H	17.49	17.60	17.60	17.64	17.60	17.60	1.1
	16.70	17.70	17.70	18.00	18.00	16.70	1.2
	18.10	17.20	18.20	18.00	17.70	18.40	II.1
	17.60	17.01	17.69	17.69	17.60	17.60	II.2
I	22.53	21.12	21.70	22.53	22.56	0.00	1.1
	20.60	19.30	21.12	22.10	22.53	0.00	1.2
	21.40	20.60	20.70	21.70	21.60	0.00	II.1
	22.06	21.17	21.32	22.41	22.50	0.00	II.2
J	29.57	30.40	0.00	0.00	30.98	0.00	1.1
	30.41	29.57	0.00	0.00	29.41	0.00	1.2
	30.60	31.40	0.00	0.00	30.70	0.00	II.1
	31.69	31.00	0.00	0.00	30.97	0.00	II.2
K	0.00	0.00	0.00	31.69	0.00	31.69	1.1
	0.00	0.00	0.00	31.80	0.00	31.89	I.2
	0.00	0.00	0.00	31.60	0.00	31.71	II.1
	0.00	0.00	0.00	30.73	0.00	31.65	II.2
L	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	46.47	1.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	47.00	1.2
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	46.40	II.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	46.81	II.2
M	0.00	52.81	0.00	0.00	0.00	52.56	I.1
	0.00	53.20	0.00	0.00	0.00	52.50	I.2
	0.00	53.40	0.00	0.00	0.00	53.21	II.1
	0.00	53.06	0.00	0.00	0.00	52.81	II.2
N	0.00	0.00	0.00	0.00	54.22	0.00	1.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	53.31	0.00	1.2
	0.00	0.00	0.00	0.00	53.30	0.00	II.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	54.22	0.00	II.2
O	0.00	0.00	0.00	63.38	0.00	0.00	1.1
	0.00	0.00	0.00	63.80	0.00	0.00	1.2
	0.00	0.00	0.00	62.50	0.00	0.00	II.1
	0.00	0.00	0.00	63.11	0.00	0.00	II.2
P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	80.98	1.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	81.60	1.2
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	81.00	II.1
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	86.00	II.2
Q	0.00	0.00	0.00	68.02	0.00	0.00	1.1
	0.00	0.00	0.00	89.10	0.00	0.00	1.2
	0.00	0.00	0.00	66.90	0.00	0.00	II.1
	0.00	0.00	0.00	88.60	0.00	0.00	II.2

LOWRY-COMITAN
SC-PAZ 1103
21/09/1984



GRAFICA 1. CURVA ESTANDAR DE ALBUMINA BOVINA PARA ESTIMAR CONCENTRACION PROTEICA (METODO DE LOWRY, 1951) EN MUSCULO DE SARDINA CRINUDA.



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CALI
 I. P. N.
 BIBLIOTECA

GRAFICA 2.
 SIMILARIDAD (DISTANCIA EUCLIDIANA) ENTRE LOS SEIS PATRONES.