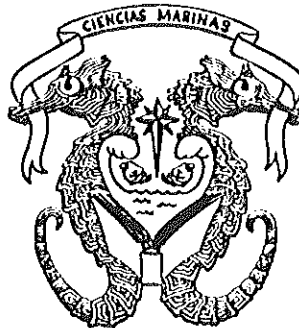


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

VARIABILIDAD GENÉTICA DEL CAMARON CAFE
(*Penaeus californiensis* Holmes, 1900)
EN UNA POBLACION DE MAZATLAN, SIN.



TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

FRANCISCO JAVIER DE LA TORRE CUETO

ENSENADA, B.C.

FEBRERO 1991



HASTA AQUI TODO VA BIEN

.....ESO CREO.

DEDICATORIA

A DIOS

A MIS PADRES

CON TODA MI ADMIRACION, CARINO Y RESPETO
LOS QUIERO

A LA FLACA Y AL GORDITO (BLANCA Y ALEJANDRO)

POR SER PARTE DE MI

A MAMA LOLA

POR SU AMOR Y EJEMPLO

A KARLA

POR SU APOYO, CONFIANZA Y CARINO

A MIS AMIGOS

AGRADECIMIENTO

A mi director de tesis, Oc. Roberto Escóbar Fernández por su ayuda en la realización de esta tesis.

A los sinodales, DR. Jorge de la Rosa, M. C. Francisco Correa, Oc. Eugenio Carpizo y Oc. Juan Antonio Fernández Apango, por sus observaciones y sugerencias.

A Efraín (aunque nunca llegó a tiempo), Meche, Roberto y Jorge por su ayuda en el laboratorio.

Al M. C. Eduardo Santamaría y al M. C. Antonio Trujillo por su ayuda estadística.

Al Oc. Salvador Galindo Bect y Oc. Martín Hernández Ayón por su ayuda y amistad.

A mis vecinos el my friend (Alejandro, el psicópata), el enano (Gabriel, el filósofo barato) y el Cejas (Arturo).

A mis amigos.

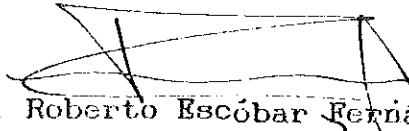
RESUMEN

Se determinó la variabilidad genética del camarón café *Penaeus californiensis* Holmes, 1900 en la población de Mazatlán, Sin., a través de métodos de genética bioquímica. Se trabajaron 17 sistemas enzimáticos en geles de almidón al 12 %. Se encontraron tres loci génicos polimórficos (EST-1, EST-2 y EST-3) con el criterio del 95% y 29 loci monomórficos (ACP-1, ACP-3, AKP-1, AKP-2, AKP-3, EST-4, EST-5, GDH-1, GOT-1, GOT-2, GPD-1, G3P-1, G6P-1, IDH-1, LAP-1, LDH-1, MDH-1, MDH-2, MEZ-1, PGM-1, PTO-1, PTO-2, PTO-3, PTO-4, PTO-5, PTO-6, SDH-1, SDH-2 y XDH-1). La heterocigosis observada fue de 0.023 ± 0.014 . La especie en estudio posee baja variabilidad como un tipo de estrategia adaptativa, la cual es explicada por la teoría del grano ambiental y la función metabólica que desempeñan las enzimas. El camarón café de la población de Mazatlán se encuentra dentro del equilibrio teórico de Hardy-Weinberg. Posee el nivel más bajo de heterocigosis para las especies de camarón pertenecientes al Golfo de California, estudiadas hasta el momento, aunque forma parte del rango de heterocigosis analizados globalmente para los peneidos.

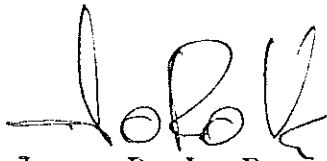
VARIABILIDAD GENÉTICA DEL CAMARON CAÑE (*Panaeus californiensis*
Holmes, 1900) EN UNA POBLACION DE MAZATLAN, SIN.

TESIS PRESENTADA POR
Francisco Javier De La Torre Cueto

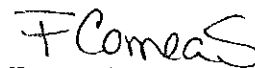
APROBADA POR



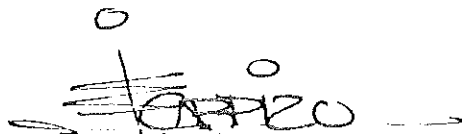
Oc. Roberto Escobar Fernández
Presidente del Jurado



DR. Jorge De La Rosa Vélez
Sinodal Propietario



M.C. Francisco Correa S.
Sinodal Propietario



Oc. Eugenio Carpizo Ituarte
Sinodal Suplente



Oc. Antonio Fernández Apango
Sinodal Suplente

INDICE GENERAL

	Pag.
RESUMEN.....	I
HOJA DE APROBACION.....	II
INDICE GENERAL.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE TABLAS.....	V
I. INTRODUCCION.....	1
I.1. CARACTERISTICAS DEL CAMARON CAFE.....	7
I.2. OBJETIVO.....	8
II. AREA DE ESTUDIO.....	9
III. MATERIALES Y METODOS.....	11
III.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	11
III.2. ELECTROFORESIS.....	11
III.3. TINCCIONES HISTOQUÍMICAS.....	18
III.4. INTERPRETACION DE ZIMOGRAMAS.....	27
III.5. ESTIMACION DE VARIABILIDAD GENÉTICA.....	28
IV. RESULTADOS.....	31
V. DISCUSIONES.....	35
VI. CONCLUSIONES.....	44
VII. SUGERENCIAS.....	45
VIII. LITERATURA CITADA.....	46

LISTA DE FIGURAS

Fig.		Pag.
1.	Localización del área de muestreo del camarón café (<i>P. californiensis</i>).....	10

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pag.
I. Frecuencias alélicas (f) de los 3 loci polimórficos analizados en el camarón café <i>Penaeus californiensis</i> Holmes, 1900 de la población de Mazatlán, Sinaloa.....	32
II. Heterocigosis, prueba de bondad y ajuste "ji-cuadrada" y valor estadístico "D" de los tres loci polimórficos, en la población de <i>Penaeus californiensis</i> de Mazatlán, Sinaloa.....	33

I INTRODUCCION

Los océanos son de gran importancia para el hombre en la provisión de recursos minerales, establecimiento del comercio, comunicación con otras culturas y sobre todo en la producción de alimento (Martínez-Rojas-Reynoso, 1990).

La alimentación es uno de los principales problemas que presenta en la actualidad el mundo entero, y en mayor grado los países subdesarrollados, por lo que los países que cuentan con litorales, poseen un amplio recurso natural para de solucionar este problema.

México posee 10, 000 Km de litoral y 1.5 millones de hectáreas de lagunas costeras por lo que se considera un país con un gran potencial pesquero (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). Además cuenta con una gran diversidad de especies económicamente explotables, como es el caso del camarón.

Los camarones constituyen uno de los principales recursos marinos en México y en la mayoría de los países del Continente Americano, tanto en las costas del Pacífico como del Atlántico (Ruiz-Durá, 1985a).

El camarón es de gran importancia comercial para el país, ya que representa cerca del 80 % de la producción pesquera, la cual en su mayoría es de la costa del Pacífico. Principalmente, la producción proviene de la

familia Penaeidae, entre la cual se encuentra al camarón café, *Penaeus californiensis* Holmes 1900, cuya zona de captura se extiende desde Baja California hasta Chiapas (Ruíz-Durá, 1985b).

El auge que posee en la actualidad la explotación del camarón ha despertado un gran interés en los inversionistas de los diferentes sectores del país. Sobre todo han tratado de invertir en la camaronicultura, ya que ofrece una fuente de divisas, alimento de alto contenido proteico, generación de empleos y utilización y aprovechamiento de materias primas regionales (Pares-Sevilla, 1988).

Por tal motivo, es de vital importancia el desarrollo de estudios básicos sobre estos organismos, con el objeto de obtener información que permita mejorar las condiciones de los cultivos. Hasta el momento, tales estudios se han basado en cubrir aspectos biométricos, morfológicos, fisiológicos y ecológicos (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). Los conocimientos obtenidos por medio de estas investigaciones han sido de gran utilidad para un mejoramiento de las condiciones de desarrollo de los organismos en cultivo, sin embargo, se ha descuidado un aspecto fundamental, el genético.

El presente estudio forma parte del proyecto "Caracterización genética de las poblaciones de peneidos comerciales del Golfo de California". Este proyecto

proporcionará una información genética de los camarones de importancia comercial del Golfo de California (*Penaeus californiensis*, *P. stylirostris* y *P. vannamei*), con el fin de caracterizar la estructura del reservorio génico específico y de esa manera ofrecer las opciones óptimas para llevar al cultivo el potencial genético adecuado (Rosa-Vélez, 1989). En particular, este estudio contribuye al proyecto con la evaluación de la variabilidad genética de la especie *Penaeus californiensis* en su población natural de Mazatlán, Sin.

La variación genética, es el cambio que sufre la estructura genética de las poblaciones de una generación a otra. Esta determina el potencial evolutivo de las poblaciones, ya que según, Rosa-Vélez (1986), la evolución ocurre mediante el cambio en las frecuencias y tipos de alelos del reservorio genético de la población, por consiguiente, la cantidad de variación asegura la persistencia evolutiva de una especie en su distribución geográfica.

Teóricamente la estructura genética de las poblaciones puede variar en diferentes localidades, y de una generación a otra, a través de los procesos de mutación, migración, deriva al azar y selección natural (Ayala, 1980).

Las mutaciones provocan cambios en genes individuales, algunas ocasionan variaciones morfológicas, otras dan lugar

a cambios en el comportamiento, modifican la viabilidad, fertilidad o la velocidad de desarrollo de los individuos que la presentan (Dobzhansky *et al*, 1980).

La migración de organismos de una población a otra influye en la variación genética de las poblaciones locales. La deriva genética al azar es debida a errores de muestreo en el proceso de reproducción de una generación a otra, dado que todas las poblaciones son finitas (Ayala, 1980). Sin embargo, la selección natural es el proceso fundamental que dirige los cambios evolutivos, ya que es direccional respecto a la adaptación. La naturaleza adaptativa de los organismos y de sus estructuras, su fisiología y su comportamiento es debida a la selección natural (Ayala, 1980).

Estos procesos evolutivos provocan variaciones en la eficacia biológica de los organismos, es decir, el cambio en la variabilidad genética implica cambios adaptativos de las poblaciones (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). Una población que presenta baja variabilidad genética, en relación a las demás que componen la especie, se considera con capacidad inferior para las respuestas al medio ambiente (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989).

Algunas variaciones pueden ser más ventajosas que otras para la supervivencia y la reproducción de sus portadores. Los organismos que tienen variaciones ventajosas, como lo

son las adaptaciones al ambiente, es más probable que sobrevivan y se reproduzcan que los organismos que no las tienen (Ayala y Kiger, 1984).

En la práctica, la evaluación de los niveles de variabilidad genética en poblaciones sujetas a explotación, dan una idea del estado de "salud genética poblacional", esto permite obtener un criterio más preciso sobre la capacidad de utilización del recurso (Rosa-Velez y Rodríguez-Romero, 1989).

Con estudios de variabilidad genética se puede comparar organismos de la misma especie pertenecientes a diferentes zonas geográficas y detectar así las posibles diferencias genéticas que puedan existir entre las poblaciones locales (Lester, 1983). También proporciona información básica que permite mejorar las especies en cultivo, tanto en la tasa de crecimiento, en cuanto a lograr mayores tallas y en consecuencia obtener mayores rendimientos en la cosecha, así como en la obtención de organismos que presenten resistencia a enfermedades o a diferentes condiciones ambientales.

En lo concerniente a los peneidos se han hecho algunos estudios de variabilidad genética en diferentes partes del mundo. Mulley y Latter (1980) realizaron un estudio de variación genética en Asia y el norte de Australia en 13

especies de la familia Penaeidae, en donde encontraron un bajo nivel de heterocigosidad (0.6 a 3.3 %) y un promedio de 14% de polimorfismo en esas poblaciones.

Lester (1979) realizó estudios en tres especies de camarones del Golfo de México sometidas a explotación comercial: *Penaeus aztecus*, *P. duorarum* y *P. setiferus*. El objetivo de esta investigación fue la medición del nivel de variación aloenzimática. Se encontró que la variación genética es muy similar en las tres especies.

De Matthaeis *et al*, (1983) realizaron un estudio en *Penaeus kerathurus* y *P. japonicus*, para evaluar su grado de diferenciación genética, encontraron que *P. kerathurus* tiene un bajo nivel de heterocigosidad (0.049) comparado con *P. japonicus* (0.118).

Lester (1983), realizó un estudio en el mismo sentido para varias especies (*Penaeus aztecus*, *P. setiferus*, *P. stylirostris* y *P. vannamei*) de la familia Penaeidae colectados al sur de E. U., y encontró los siguientes valores de heterocigosidad: *P. aztecus* 0.09, *P. setiferus* 0.07, *P. vannamei* 0.02 y *P. stylirostris* 0.06. Señala además que los valores obtenidos pueden estar influidos por un sesgo en la muestra genética hacia loci variables, sin tomarse en cuenta los loci que presentaron baja resolución.

I.1. CARACTERÍSTICAS DEL CAMARON CAFE

Clasificación taxonómica:

Phylum Arthropoda
Clase Malacostraca
Orden Decapoda
Familia Penaeidae
Género *Penaeus*
Especie *californiensis* Holmes, 1900

Su cuerpo se encuentra dividido en tres regiones: cefalotórax, abdomen y telson.

Distribución:

Los adultos se localizan entre 10 hasta 100 brazas de profundidad; el área donde es más abundante, se localiza alrededor de las 30 brazas.

El mayor número de huevos se ha localizado entre 10 y 12 brazas, así como los nauplios y primeras protozoas. Las misis se localizan a una profundidad alrededor de 10 a 5 brazas y son menos numerosas, por último las postlarvas a profundidad menor de 5 brazas (Rodríguez-Cruz, 1976).

Se distribuye en el Pacífico Oriental desde Punta Abreojos, B. C. hasta B. Pechura, Perú (Hernández-Carvallo, 1976).

Densidad de la población:

Para la parte central y norte del Golfo de California se ha calculado una población promedio de doscientos cincuenta millones de ejemplares por temporada (Rodríguez-Cruz, 1976).

Características sexuales:

Los sexos de esta especie son semejantes en color y forma; la hembra, sin embargo, es ligeramente mayor y más pesada que el macho.

Se han citado 1.5 hembras por cada macho capturado (Rodríguez-Cruz, 1976).

Régimen alimenticio:

Son omnívoros, y se alimentan de día como de noche en cualquier etapa de su desarrollo (Rodríguez-Cruz, 1976).

I.2. OBJETIVO

Evaluar la variabilidad genética de *Penaeus californiensis* Holmes, 1900 en una población de Mazatlán, Sin., mediante métodos de la genética bioquímica.

II AREA DE ESTUDIO

El Área de colecta se localiza en las coordenads $21^{\circ} 47.5' N$ y $106^{\circ} 00' O$, al sur del estado de Sinaloa (fig. 1).

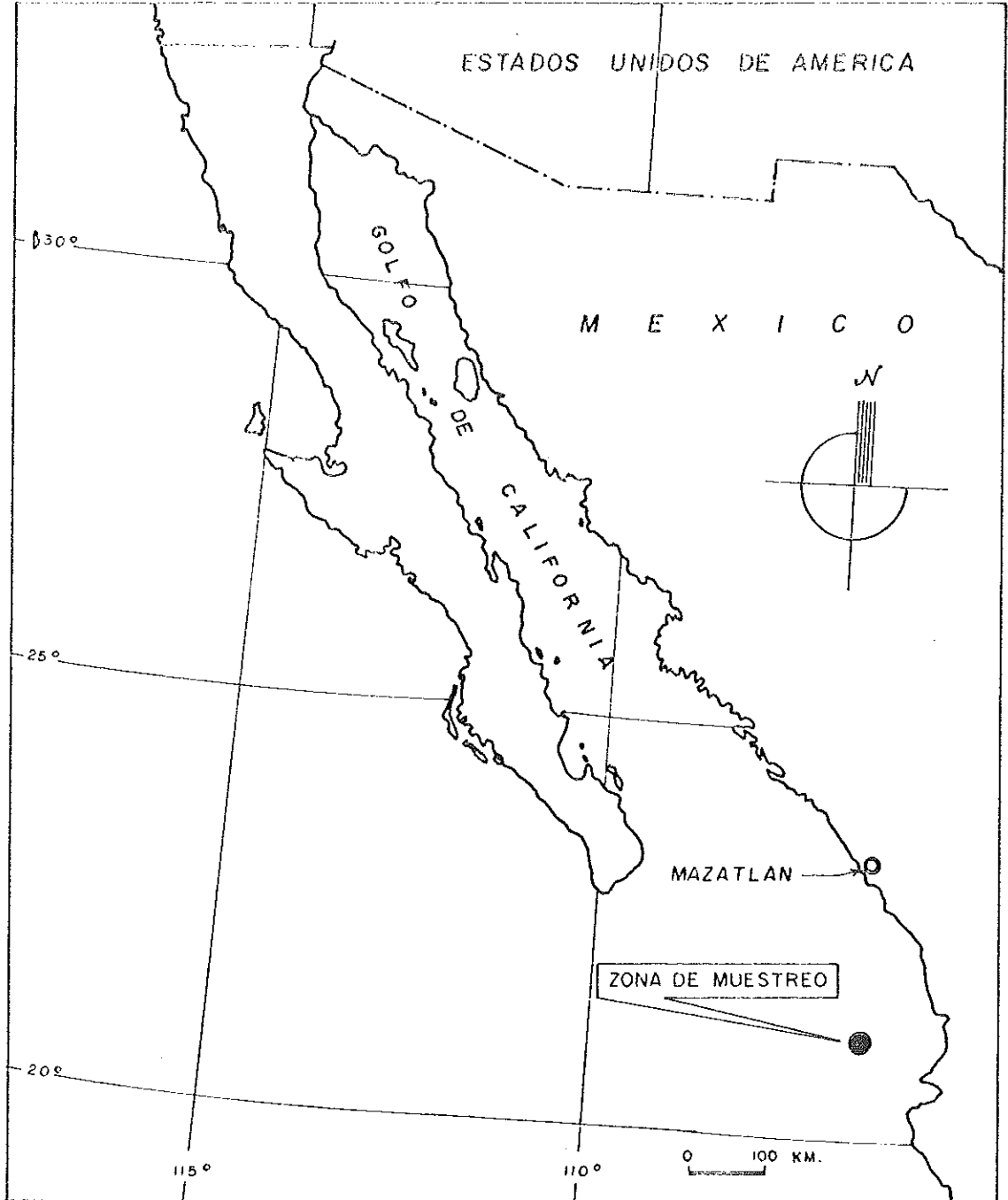


FIGURA 1- LOCALIZACION DEL AREA DE MUESTREO DEL CAMARON CAFE (*P. californiensis*)

III MATERIALES Y METODOS

III.1. Material Biológico

Se colectaron aproximadamente 50 organismos adultos a una profundidad entre 100 y 120 brazas, por el mes de febrero de 1990, los cuales se transportaron congelados hasta el laboratorio de Genética del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de U. A. B. C., donde se almacenaron en un congelador a -75°C . Primeramente se hicieron mediciones del largo y ancho del cefalotórax, longitud total del abdomen, así como también se determinó el sexo (estos datos se tomaron con el objetivo de buscar una posible relación entre las características morfológicas y el genotipo). Se disecaron para obtener los tejidos del cefalotórax (glándula verde, estómago y glándula digestiva) y abdomen, estos se homogeneizaron en un amortiguador Tris-Hcl 0.1M, pH 7.0, NAD, NADP, polivinilpirrolidona (10:1:1:100; v:p:p:p) y se centrifugaron a $12\ 000 \times g$ durante 25 min, el sobrenadante se utilizó para la realización del estudio electroforético. Toda la manipulación de la muestra se realizó a una temperatura aproximada de 4°C .

III.2. Electroforesis

Se realizó una electroforesis horizontal en gel de almidón siguiéndose la metodología descrita por Lewontin y Hubby (1966; citados por Selander, 1980). Se preparó el gel

mezclando almidón hidrolizado (Sigma) con una solución amortiguadora (especifica para los sistemas enzimáticos y descrita en la pag. 13) para obtener una suspensión al 12 %. Se mezclaron 100 ml de la solución amortiguadora con 52.8 g del almidón hidrolizado en un matraz Kitasato de 2000 ml hasta hasta lograr una suspensión homogénea. El resto de la solución amortiguadora se calentó en una plancha hasta ebullición. La solución caliente se agregó a la mezcla original agitando vigorosamente para evitar grumos, la agitación se realizó hasta que la mezcla se tornó opalescente. En este punto se extrajo el aire por medio de vacío durante 35 seg o hasta que las burbujas de mayor tamaño desaparecieron. Inmediatamente el gel se vertió en un contenedor (hecho de marco de acrílico de 15 x 25 x 1 cm.) para que la mezcla quedase en forma de placa, la cual se cubrió con una placa de vidrio para que la parte superior quedase plana, cuidando no atrapar burbujas de aire.

Ya enfriada a temperatura ambiente (aproximadamente 4 H) se realizó un corte a lo largo del gel, a unos 3.5 cms. del borde, donde se colocaron las mechas (1 x 0.5 cm.) de papel filtro Watman # 3 saturadas con la muestra (sobrenadante), así como una mecha empapada con azul de bromofenol al 0.0002 %, el cual actúa como indicador del corrimiento electroforético. El gel se colocó en una cuba electroforética, en contacto con una solución amortiguadora

específica, por medio de papel filtro Watman # 1, con lo que se transmite el flujo eléctrico. La cuba electroforética se introdujo a un refrigerador a una temperatura de 4 °C, y se conectó a una fuente de poder (HBI, según la programación descrita posteriormente para cada sistema amortiguador) para que se realice el flujo eléctrico y así se lleva a cabo el desplazamiento de las proteínas.

Aproximadamente 45 min antes del término de la electroforesis, se preparó la mezcla histoquímica de tinción para cada sistema enzimático.

Cuando finalizó el corrimiento electroforético, el gel se rebanó en tres capas que se revelaron utilizando tinciones específicas para cada sistema enzimático.

Las enzimas ensayadas fueron:

Enzima málica	MEZ
Esterasas	EST
Fosfogluco mutasa	PGM
Fosfatasa ácida	ACP
Fosfatasa alcalina	AKP
Glucosa fosfato deshidrogenasa	GPD
Glucosa 3 fosfato deshidrogenasa	G3P
Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa	G6P
Glutamato deshidrogenasa	GDH
Isocitrato deshidrogenasa	IDH

Lactato deshidrogenasa	LDH
Leucinamino peptidasa	LAP
Malato deshidrogenasa	MDH
Proteína total	PTO
Sorbitol deshidrogenasa	SDH
Transaminasa glutámico oxalacética	GOT
Xantina deshidrogenasa	XDH

La tinción histoquímica consistió en la incubación del gel donde se desarrolló la electroforesis del extracto crudo del tejido, con una mezcla de reacción que incluye el sustrato específico de la enzima que se desea revelar, las coenzimas y cofactores requeridos en la reacción y un amortiguador al pH óptimo de la enzima, a la temperatura adecuada (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989). Las zonas de la actividad enzimática aparecen como bandas teñidas por medio de un colorante afín al producto de la reacción (colorantes diazo) o al proceso de la reacción (colorantes de tetrazolio).

Sistemas amortiguadores

- Sistema amortiguador C (Selander *et al.*, 1971).

Electrodo:

a) Tris (0.687 M).....	83.196 g
b) Acido cítrico (0.157 M).....	30.164 g
c) Agua.....	1000 ml
d) pH.....	8.0

Gel:

a) Tris (0.022 M).....	2.722 g
b) Acido cítrico (0.0052 M).....	1.003 g
c) Agua.....	1000 ml
d) pH.....	8.0

Sistemas enzimáticos revelados bajo las condiciones de este amortiguador; y tejidos empleados:

AbdomenCefalotórax

AKP

AKP

GOT

LAP

MEZ

PGM

SDH

XDH

Programación de la fuente de poder para el desarrollo de la electroforesis:

a) Voltaje.....	100 V
b) Amperaje.....	50 mA
c) Wattaje.....	20 W
d) Tiempo.....	6 h

- Sistema amortiguador R (Poulik, 1957).

Electrodo:

a) Acido bórico (0.30 M).....	18.549 g
b) Hidróxido de sodio.....	2.400 g
c) Agua.....	1000 ml
d) pH.....	8.2

Gel:

a) Tris (0.076 M).....	9.204 g
b) Acido cítrico (0.005 M).....	0.916 g
c) Agua.....	1000 ml
d) pH.....	8.7

Sistemas enzimáticos revelados bajo las condiciones de este amortiguador:

AbdomenCefalotórax

PTO

PTO

ACP

Programación de la fuente de poder para el desarrollo de la electroforesis:

a) Voltaje.....	250 V
b) Amperaje.....	50 mA
c) Wattaje.....	50 W
d) Tiempo.....	5 h

- Sistema amortiguador G (Shaw y Koen, 1968).

Electrodo:

a) Tris (0.5 M).....	60.550 g
b) EDTA (0.02 M).....	7.445 g
c) Acido Bórico (0.65 M).....	40.190 g
d) Agua.....	1000 ml
e) pH.....	8.0

Gel:

a) La preparación del gel es una dilución 1:9 de la solución amortiguadora preparada para el electrodo.

Sistemas enzimáticos revelados bajo las condiciones de este amortiguador:

<u>Abdomen</u>			<u>Cefalotórax</u>
IDH	G6P	LDH	EST
GDH	GPD	MDH	
G3P			

Programación de la fuente de poder para el desarrollo de la electroforesis:

a) Voltaje.....	200 V
b) Amperaje.....	50 mA
c) Wattaje.....	40 W
d) Tiempo.....	6 h

III.3. Tinciones histoquímicas

Descripción de las fórmulas de tinción utilizadas para el revelado de los diferentes sistemas enzimáticos ensayados en este estudio:

Enzima málica (MEZ) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

a) NADP.....	10 mg
b) NBT.....	10 mg
c) PMS.....	5 mg
d) MgCl ₂ (10%).....	0.1 ml
e) Tris-HCl (0.1 M, pH 8.4).....	10 ml

- f) Agua..... 37.5 ml
- g) Solución sustrato MDH..... 2.5 ml
 - i) Acido málico..... 13.4 g
 - ii) Na₂CO₃ (2 M)..... 49 ml
 - iii) Agua..... 51 ml
 - iv) pH..... 7.0

2) incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Esterasas (EST) (Shaw y Prasad, 1970)

1) Teñir con:

- a) Azul rápido BB..... 50 mg
- b) Tris-HCl (0.5 M, pH 7.1)..... 5 ml
- c) Agua..... 43.5 ml
- d) Solución sustrato EST..... 1.5 ml
 - i) α Naftil acetato... 100 mg
 - ii) β Naftil acetato... 100 mg
 - iii) Acetona..... 5 ml
 - iv) Agua..... 5 ml

2) Colocar a temperatura ambiente fuera del alcance de la luz, hasta que aparezcan las bandas.

Fosfogluco mutasa (PGM) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

- a) Glucosa 1 fosfato..... 250 mg
- b) EDTA..... 25 mg

- c) NBF..... 10 mg
- d) NADP..... 5 mg
- e) MgCl₂ (10 %)... 0.1 ml
- f) Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. 40 u
- g) PMS..... 1 mg
- h) Tris-HCl (0.1 M, pH 7.1)..... 50 ml

2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Fosfatasa ácida (ACP) (Shaw y Prasad, 1970)

1) Teñir con:

- a) α Naftil fosfato ácido..... 50 mg
- b) Azul rápido BB..... 50 mg
- c) Acetato de sodio (0.05 M, pH 5.0). 50 ml

2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Fosfatasa alcalina (AKP) (Shaw y Koen, 1968)

1) Teñir con:

- a) α Naftil fosfato ácido..... 50 mg
- b) Azul rápido BB..... 50 mg
- c) Sulfato de magnesio anhidro.... 60 mg
- d) Solución de Boratos (pH 9.7).. 100 ml
 - i) Acido bórico.. 0.374 g
 - ii) NaOH (1 M).... 5 ml
 - iii) Agua..... 100 ml

2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Glucosa fosfato deshidrogenasa (GPD) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

a) NAD.....	25 mg
b) MTT.....	15 mg
c) PMS.....	1 mg
d) Tris-HCl (0.5 M pH 7.1).....	7.5 ml
e) Agua.....	32.5 ml
f) Sustrato.....	5 ml
i) Na α glicerofosfato..	2.16 g
ii) Agua.....	10 ml
iii) pH.....	7.0

Glucosa 3 fosfato deshidrogenasa (G3P) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

a) NAD.....	25 mg
b) MTT.....	15 mg
c) PMS.....	1 mg
d) Arseniato de sodio.....	90 mg
e) Tris-HCl (0.5 M, pH 7.1).....	10 ml
f) Agua.....	35 ml
g) Solución sustrato G3P.....	5 ml
i) Fructosa 1,6 difosfato..	273 mg
ii) Aldolasa.....	50 μ

iii) Tris-HCl (0.5 M, pH 7.1) 2 ml

iv) Agua..... 3 ml

Mezclar e incubar a 37 °C(30 min)

2) incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6P) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

a) Glucosa 6 fosfato..... 75 mg

b) NADP..... 15 mg

c) MTT..... 10 mg

d) PMS..... 1 mg

e) Tris-HCl (0.5M, pH 7.1)..... 12.5 ml

f) Agua..... 37.5 ml

2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Glutamato Deshidrogenasa (GDH) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

a) NAD..... 25 mg

b) MTT..... 15 mg

c) PMS..... 1 mg

d) Amortiguados Fosfatos(0.5 M, pH7.0) 12.5 ml

e) Agua..... 35 ml

f) Solución sustrato GDH..... 2.5 ml

- i) Glutamato de sodio..... 4.25 g
 - ii) Fosfatos (0.5 M, pH 7.0). 100 ml
- 2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Isocitrato deshidrogenasa (IDH) (Abreu, 1983)

- 1) Teñir con:
- a) Isocitrato de sodio..... 67.5 mg
 - b) NADP..... 15 mg
 - c) NBT..... 10 mg
 - d) MgCl₂ 15 mg
 - e) PMS..... 1 mg
 - f) Tris-HCl (0.1 M, pH 8.0)..... 50 ml
- 2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Lactato deshidrogenasa (LDH) (Shaw y Prasad, 1970)

- 1) Teñir con:
- a) NAD..... 25 mg
 - b) MTT..... 15 mg
 - c) PMS..... 1 mg
 - d) Tris-HCl (0.5 M, pH 7.1)..... 7.5 ml
 - e) Agua..... 37.5 ml
 - f) Solución sustrato LDH..... 5 ml
 - i) Acido láctico (85%)..... 5.3 ml

- ii) Carbonato de sodio (1 M).. 24.5ml
 - iii) Agua hasta 50 ml
- 2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Leucinamino peptidasa (LAP) (Shaw y Prasad, 1970)

- 1) Teñir con:
- a) Tris-Malato (ph 6.0)..... 25 ml
 - b) Sal rápida negra K..... 25 mg
 - c) L-Leucil B Naftilamida..... 10 mg
 - d) Agua..... 25 ml
- 2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Malato deshidrogenasa (MDH) (Schaal y Anderson, 1974)

- 1) Teñir con:
- a) NAD..... 25 mg
 - b) MPT..... 15 mg
 - c) PMS..... 1 mg
 - d) Tris-HCL (0.1 M, pH 7.0)..... 5 ml
 - e) Agua..... 40 ml
 - f) Solución sustrato MDH..... 5 ml
 - i) Acido málico.. 13.4 g
 - ii) Na₂CO₃ (2 M).. 49 ml
 - iii) Agua..... 51 ml
 - iv) pH..... 7.0
- 2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Proteína total (PTO) (Rosa-Vélez, 1986)

1) Teñir con:

- a) Azul de coomasie R-250..... 1.25 g
- b) Metanol..... 227 ml
- c) Acido acético..... 46 ml
- d) Agua..... 227 ml

2) Colocar a temperatura ambiente hasta que aparezcan las bandas.

Sorbitol deshidrogenasa (SDH) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

- a) Sorbitol..... 25 mg
- b) NAD..... 5 mg
- c) MTT..... 7.5 mg
- d) PMS..... 1 mg

2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Transaminasa glutámico oxal (GOT) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

- a) Azul rápido BB..... 125 mg
- b) Agua..... 25 ml
- c) Solución sustrato GOT..... 25 ml
 - i) Acido cetoglutárico.. 0.073 g
 - ii) Acido L aspártico..... 0.266 g

iii) Polivinil pirrolidona.	1 g
iv) EDTA.....	0.1 g
v) Na ₂ HPO ₄	2.84 g
vi) Agua.....	100 ml

c.1) Realizar una postunion (vertir posteriormente) con 5 ml de agua y 125 g de azul rápido BB.

2) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Xantina deshidrogenasa (XDH) (Schaal y Anderson, 1974)

1) Teñir con:

a) Hipoxantina.....	50 mg
b) Tris-HCl (0.5 M, pH 7.0).....	5 ml
c) NAD.....	15 mg
d) MTT.....	10 mg
e) PMS.....	1 mg
f) Agua.....	45 ml

2) Disolver primero la hipoxantina y el tris-HCl con un ligero calentamiento y combinar el resto de los compuestos.

3) Incubar a 37 °C hasta que aparezcan las bandas.

Al aparecer las bandas se procede al fijado de los geles con la solución destiñidora y fijadora: etanol (600 ml) - ac. acético (200 ml) - agua (1200 ml).

El revelado determinó la información necesaria para obtener el grado de heterocigosis de la población acorde a la interpretación de los zimogramas.

III.4. Interpretación de zimogramas

Zimograma se refiere a los electromorfogramas revelados para enzimas específicas por medio de tinciones histoquímicas (Hunter y Markert, 1957; citado por Rosa-Vélez, 1986). Las bandas coloreadas o electromorfos (King y Ohta, 1975; citado por Rosa-Vélez, 1986) son zonas de actividad enzimática o, en el caso de revelar con colorantes que tiñan a la proteína total, de concentración proteínica. En el caso de sistemas multilocus, se discriminó entre loci cuando la variación de fenotipos dados por la zona de actividad o de concentración proteínica no se afectaban entre sí, es decir, cuando la variación fenotípica sistemática en una zona del zimograma era independiente de la otra zona (Rosa-Vélez, 1986).

La variación entre alelozimas de un mismo locus se registró considerando homocigotos a los individuos cuyo fenotipo consistía de una sola banda con determinada movilidad, y heterocigotos a aquellos que, dependiendo de la estructura cuaternaria de la enzima, presentaban dos bandas para los monoméricos o tres bandas para los diméricos en el fenotipo representado (Rosa-Vélez, 1986).

Las frecuencias electromórficas se tradujeron en frecuencias alélicas y se habla de frecuencias genotípicas correspondientes a modelos electromórficos, aunque se entiende que los alelos designados, por las limitaciones discriminatorias de la técnica, pueden corresponder a grupos de isoalelos (Rosa-Vélez, 1986).

III.5. Estimación de la variabilidad genética

Se determinó la variabilidad genética de los organismos, utilizando el polimorfismo, la heterocigosis observada y la heterocigosis esperada.

Para estimar el polimorfismo se uso el criterio del alelo más común con una frecuencia $P \leq 0.95$.

En la estimación del polimorfismo (P) se utilizó la relación número de loci polimórficos observados y número de loci totales observados:

$$\text{Polimorfismo} = (\text{loci polimórficos})/(\text{loci totales})$$

La heterocigosis observada (H_o) se obtuvo de la relación entre el número total de heterocigotos y el número de organismos:

$$H_o = (\text{Número de heterocigotos})/(\text{Número de Organismos})$$

La heterocigosis esperada (H_e) se estimó a partir de las frecuencias alélicas:

$$H_e = 1 - (f_1^2 + f_2^2 + f_3^2 + \dots + f_n^2)$$

Donde las frecuencias se determinaron de la relación entre el número de alelos y el número de genes totales analizados:

$$f = (\text{número de alelos})/(\text{número de genes analizados})$$

Cuando la frecuencia de algunas de las clases genotípicas fue menor de 5 se utilizó la corrección de Yates (Ayala y Kiger, 1984).

Se utilizó la prueba de bondad de ajuste "ji-cuadrada", con el fin de probar si los loci polimórficos se encontraban bajo el equilibrio teórico del principio de Hardy-Weinberg.

Para la obtención de los grados de libertad de la prueba de bondad de ajuste se utilizó la siguiente fórmula:

Grados de libertad= (Genotipos)-(Alelos)

También se evaluó la deficiencia o exceso de heterocigosis, por medio del estadístico "D" :

$$D = (H_o - H_e)/(H_e)$$

En la tabla I, el alelo más común en cada locus fue designado como 100, a partir de este patrón, los demás alelos fueron registrados, a los cuales se les añade o subtrae de 100 el número de milímetros en que los electromorfos variaron en su migración.

Se realizó la correlación de Spearman y Pearson (Zar, 1984), para determinar una posible relación entre la heterocigosis y el tamaño de los organismos.

IV RESULTADOS

Se estudiaron 48 organismos adultos, en 17 sistemas enzimáticos, los cuales revelaron 32 loci. Se encontraron tres loci polimórficos (EST-1, EST-2 y EST-3) bajo el criterio del alelo más común con una frecuencia ≤ 0.95 ; y 29 loci monomórficos (ACP-1, ACP-3, AKP-1, AKP-2, AKP-3, EST-4, EST-5, GDH-1, GOT-1, GOT-2, GPD-1, G3P-1, G6P-1, IDH-1, LAP-1, LDH-1, MDH-1, MDH-2, MEZ-1, PGM-1, PTO-1, PTO-2, PTO-3, PTO-4, PTO-5, PTO-6, SDH-1, SDH-2 y XDH-1). Se encontró un 9.4 % de polimorfismo (criterio del 95 %).

En la tabla I se observa las frecuencias alélicas de los loci polimórficos encontrados.

La heterocigosis observada de la población es de 0.023 ± 0.014 y la heterocigosis esperada, asumiendo el equilibrio teórico de Hardy-Weinberg, es de 0.030 ± 0.018 (Tabla II).

La prueba de bondad de ajuste "ji-cuadrada" se determinó para los loci polimórficos (EST-1, EST-2 y EST-3), los cuales se encuentran dentro del equilibrio teórico de Hardy-Weinberg (Tabla II).

EST-1 aunque se encuentra dentro del equilibrio teórico de Hardy-Weinberg, posee deficiencia heterocigótica (-0.365 , $P > 0.1$) (Tabla II).

Tabla I.- Frecuencias alélicas (f) de los 3 loci polimórficos analizados en el camarón café *Penaeus californiensis* Holmes, 1900 de la población de Mazatlán, Sin.

Locus	Alelo	Individuos	Frecuencia (f)
EST-1	102	48	0.156
	100		0.646
	96		0.198
EST-2	104	48	0.083
	101		0.052
	100		0.854
	96		0.010
EST-3	103	48	0.052
	100		0.948

Tabla II.- Heterocigosis, prueba de bondad de ajuste "Ji-cuadrada" y valor estadístico "D" (Signo - significa deficiencia y signo + significa exceso de heterocigosis) de los tres loci polimórficos, en la población de *Penaeus californiensis* de Mazatlán, Sin. Ho = Heterocigosis observada, He = Heterocigosis esperada, G. l. = Grados de libertad.

Locus	Ho	He	G. l.	Ji-cuadrada	D
EST-1	0.333	0.525	1	2.937	- 0.365
EST-2	0.292	0.263	1	0.391	+ 0.107
EST-3	0.104	0.100	1	0.000	+ 0.044

$$H_o = 0.023 \pm 0.014$$

$$H_e = 0.030 \pm 0.018$$

La prueba de Spearman dió las siguientes correlaciones:

a) Longitud del abdomen contra heterocigosis individual.

0.9349

b) Longitud total del organismo contra heterocigosis individual.

0.9351

La prueba de Pearson dió la siguiente correlación:

a) Longitud del abdomen contra heterocigosis individual:

0.125

V DISCUSION

Al comparar el polimorfismo de las diferentes especies se observa que en general el camarón café es el que posee menor polimorfismo para las especies del Golfo de California analizadas hasta el momento.

Tanto las poblaciones de Santa Clara como la de Guaymas, no publicadas hasta el momento, presentan el mismo polimorfismo (12.5 %), el cual es mayor al polimorfismo de los organismos de Mazatlán (9.4 %).

En otros estudios realizados en Santa Clara, Son. y Guaymas, Son. (pertenecientes al mismo proyecto), pero con la especie *Penaeus stylirostris* se obtuvo un polimorfismo de 15.63 % (Santa Clara, Son.) y 25.00 % (Guaymas, Son.). En Sinaloa se estudió también al camarón rosado, *Penaeus brevisrostris* (no publicado), en donde se obtuvo un polimorfismo del 15.63 %.

El polimorfismo reportado en todos los casos anteriores fue considerando como criterio el 95 % de confianza.

Parece ser que el camarón café, en el Golfo de California, presenta uno de los polimorfismos más bajos a nivel mundial, ya que Lester (1983) también encontró niveles de polimorfismo superiores: 25 % en *Penaeus stylirostris*, 16 % en *P. vannamei*, 33 % en *P. aztecus* y 29 % en *P. setiferus*, con el criterio del 95 %. Mulley y

Latter (1980) corroboran esto, al estudiar un grupo de 13 especies de peneidos y obtienen un polimorfismo promedio del 14 %, el cual es también superior al encontrado en *Penaeus californiensis* de las poblaciones del Golfo de California.

El bajo nivel de polimorfismo que presenta el camarón café con respecto a las otras especies de camarón (azul, rosado y blanco) de la zona del Golfo de California, estudiadas hasta el momento, parece ser que se debe a algún tipo de estrategia adaptativa al medio, a causa de los diferentes ciclos de vida que posee cada especie, ya que *Penaeus californiensis*, según Soto (1967; citado por Vázquez, 1976) es una especie que realiza su ciclo biológico en el mar aunque ocasionalmente entra en aguas interiores, pero en número reducido y generalmente a finales de la primavera, o sea la estación de sequía, siendo la única especie, estudiada hasta el momento, que todo su ciclo de vida lo realiza en aguas marinas. Mientras que en *Penaeus stylirostris* (camarón azul), los juveniles a partir de misis y postlarvas se localizan cercanos a la costa, en especial a la desembocadura de Bahías, esteros, y en ellas permanecen hasta alcanzar una talla alrededor de 7 a 10 cm, de longitud total (Rodríguez-Cruz, 1976).

Penaeus brevirostris (camarón rosado) aunque se localiza por abajo de las 30 brazas de profundidad, se ha encontrado en aguas interiores, en etapa juvenil (Rodríguez-Cruz, 1976).

Penaeus vannamei (camarón blanco), Al igual que el camarón rosado, en etapa juvenil se localiza en aguas interiores, mientras que en etapa adulta se localizan entre 5 y 10 brazas (Rodríguez-Cruz, 1976).

La heterocigosis observada (0.023 ± 0.014) implica una baja variabilidad genética del camarón café (*Penaeus californiensis*) de la población de Mazatlán, Sin.. Al ser comparada con otros estudios de variabilidad genética de camarón café de las poblaciones de Guaymas, Son. y Santa Clara, Son. (no publicados), muestran una gran similitud con Santa Clara, Son. (0.024 ± 0.012), mientras para los organismos de Guaymas, Son. la variabilidad es mayor (0.037 ± 0.021), se observa que existe un comportamiento similar para el camarón café (*Penaeus californiensis* Holmes, 1900), esto es que la baja variabilidad genética parece presentarse en toda la especie para las poblaciones del Golfo de California, en comparación con otras especies de poblaciones del mismo Golfo, ya que el camarón rosado (Sinaloa) presenta 0.079 ± 0.035 de heterocigosis observada, el camarón blanco (Mazatlán, Sin.) posee una heterocigosis observada de 0.084 ± 0.031 y el camarón azul (Guaymas, Son.) tiene una heterocigosis de 0.067 ± 0.025 ,

aunque se presenta una excepción que es el camarón azul para la población de Santa Clara, Son., la cual posee una heterocigosis de 0.038 ± 0.021 , valor que está al mismo nivel que el camarón café de Guaymas, Son.

Trabajos realizados sobre otras especies de camarón pertenecientes al mismo género (*Penaeus*) muestran baja variabilidad genética. Mulley y Latter, en 1980 hicieron estudios de variabilidad genética de 13 especies de peneidos en donde encontraron una baja heterocigosis (de 0.6 hasta 3.3 %) y una alta proporción de loci fueron monomórficos (86 %), lo cual se lo atribuyen en gran parte a las reducciones periódicas en el tamaño de la población, que se ven involucradas en cada especie, por las condiciones externas que influyen en su ciclo de vida, y como estrategia mantienen bajo su nivel de polimorfismo. También mencionan que una posible explicación de los bajos niveles de heterocigosis encontrados se deben a una selección en contra de las variaciones genéticas mutacionales.

De Matthaëis *et al.* (1983), también señalan la existencia de baja variabilidad para *Penaeus kerathurus* (0.049), aunque en su estudio encontraron que *Penaeus japonicus* presenta una variabilidad relativamente alta (0.118) en comparación con las encontradas hasta el momento, lo cual se lo atribuyen en gran parte a una particular estrategia adaptativa que presenta la especie.

Señalan que una relativa baja heterocigosidad es para enzimas envueltas en procesos internos, mientras que enzimas con amplios substratos relacionadas en procesos de sustancias derivadas del ambiente externo, presentan una alta heterocigosidad. Mencionan que esto se cumple excepto por dos loci (MDH-1 y MDH-3) que no concuerdan con esta teoría.

Aunque De Matthaeis *et al.* (1983), señalan una excepción a la baja variabilidad (*Penaeus japonicus*) en el género *Penaeus*, la generalidad de los reportes coinciden en que los peneidos presentan un bajo nivel de heterocigosidad, por lo que la poca variabilidad genética parece ser un comportamiento genético global en los camarones peneidos.

Esto podría ser explicado por la teoría del grano ambiental (Levins, 1968, citado por Selander y Kaufman, 1973) la cual dice que los organismos más grandes y móviles experimentan sus ambientes como de textura más fina (pueden explotar todas o casi todas las zonas del mosaico ambiental), que las formas pequeñas, menos móviles. Un organismo también percibe su ambiente como de grano fino, si como estrategia ingiere tantos alimentos como fuera posible a causa de la existencia de recursos temporalmente variables (Valentine, 1980; citado por Ayala, 1980), y el hecho de que el camarón sea omnívoro le permite poseer una dieta amplia. Estos organismos de grano o textura fina son

generalistas, es decir, como son más móviles deben de adecuarse a diversos medios, lo que mejora las oportunidades de encontrar alimento, incluso se extiende la capacidad del organismo sobre otros recursos alimenticios más allá del tiempo de productividad (Valentine, 1980; citado por Ayala, 1980); quiere decir que para las formas u organismos más grandes, el medio ambiente es menos variable, por lo tanto se requiere una variabilidad genética más baja para la adaptación.

Tracey y Nelson (1975; citado por Ayala 1980), determinaron que la variabilidad genética es baja en los grandes crustáceos marinos ($H = 0.01 - 0.06$ en langostas y cangrejos). Barnes (1985) señala que dentro de los grandes crustáceos marinos se encuentra el camarón.

Se ha tratado también de determinar la variabilidad genética de los organismos en base de la función metabólica que desempeñan los enzimas.

Gillespie y Kojima, (1968; citado por Ayala, 1980) sugieren que generalmente el polimorfismo es menor en las enzimas que metabolizan la glucosa (grupo I) que en las enzimas no específicas (grupo II). Más tarde en 1974 Gillespie y Langley (citados por Ayala, 1980) definieron los enzimas del grupo I como caracterizados por un substrato fisiológico singular que usualmente es generado y

utilizado intracelularmente, y los enzimas del grupo II como enzimas con substratos fisiológicos múltiples que reflejan la diversidad ambiental.

Johnson (1974) también menciona que los enzimas que reaccionan con amplios substratos (del medio externo), tienen una mayor variabilidad que aquellas con substratos específicos; aunque Ayala (1980) señala que el análisis hecho por Johnson no es convincente, menciona que las clasificaciones de los enzimas para caracterizarlos dentro de un grupo son insatisfactorias, y lo que resulta de mayor importancia es la existencia de muchos tipos de enzimas asignados a ambos grupos que presentan una heterogeneidad con respecto a la variabilidad (Zouros, 1975 citado por Ayala, 1980).

En este trabajo se encontraron a EST-1, EST-2, EST-3 (cataliza reversiblemente la escisión y síntesis de esteres de alcoholes de bajo peso molecular y de ácidos grasos; White *et al.* 1973) como polimórficas, las cuales pertenecen al grupo II (Selander, 1980, en Ayala, 1980) y coinciden con las teorías descritas anteriormente, sin embargo, ACP y AKP pertenece al mismo grupo II y resultaron monomórficas.

A pesar de que en este estudio las enzimas ACP y AKP no entraron dentro de las clasificaciones que determinan la variabilidad genética de acuerdo a la función metabólica, parece ser que en general en los camarones estudiados del

Golfo las enzimas ACP y AKP sí pertenecen a dicha clasificación metabólica, quizá la especie en estudio (*P. californiensis*) como algún tipo de estrategia adaptativa las presenta como monomórficas.

Michael y Lenner, (1954; citado por Mitton y Grant, 1984) establecen una relación entre crecimiento y heterocigosis, en la que indican que los individuos más heterocigotos poseen un mayor ritmo de crecimiento, homeostasis y menor variación morfológica.

En el presente trabajo la prueba de Spearman dió una alta correlación, la cual no se ajusta a los datos reales que presenta la especie, debido a que tanto los individuos de talla grande como de talla pequeña presentan heterocigosis individual de cero, así como también heterocigosis altas (0.033, 0.066 y 0.094).

La alta correlación que originó esta prueba es a causa de que discretó los valores en tres bloques (lo cual se debe a la baja variabilidad de la especie, ya que, presenta únicamente tres loci polimórficos de 32 loci), es decir agrupó a los organismos con heterocigosis cero en un grupo y a los organismos con heterocigosis de 0.033 y 0.066 en otros dos grupos.

Esto da origen a que se presente una alta varianza, lo que implica que la prueba de Spearman para este estudio

tenga una significancia muy baja, por lo cual es inadecuado esta prueba para especies con estas características genéticas.

Por otra parte, se utilizó la prueba de Pearson (aunque no se tiene una muestra normal) debido a que discretizó menos los valores (heterocigosis y talla), pero tal prueba resultó con una correlación muy baja (0.125), es decir, no encontró una correlación entre heterocigosis individual y talla del organismo, por lo tanto la relación propuesta por Michael y Lenner (1954; citado por Mitton y Grant, 1984) no se pudo probar en este estudio.

VI CONCLUSION

El camarón café de la población de Mazatlán, Sin. se encuentra dentro del equilibrio teórico de Hardy-Weinberg

La población de *Penaeus californiensis* posee el nivel más bajo de heterocigosis para las especies, estudiadas hasta el momento, pertenecientes al Golfo de California, México.

El nivel de heterocigosis de la población de *Penaeus californiensis* de Mazatlán, Sin. se ubica dentro de los valores de heterocigosidad globales encontrados para el género *Penaeus*.

VII SUGERENCIAS

Al observar los problemas que se presentaron con con las pruebas de Spearman y Pearson para poder comprobar la correlación entre heterocigosis y talla, da la pauta para sugerir que es necesario diseñar otro tipo de metodologías para probar dicha hipótesis, en donde se tomen en cuenta más factores de la especie, es decir conocer desde que tipo de enzimas son polimórficas o monomórficas, su relación con las características fenotípicas hasta como es su interacción con el medio, esto es a causa de que las especies presentan diferentes estrategias adaptativas a las condiciones que les rodean.

VIII LITERATURA CITADA

- Abreu, G. A. 1983. POPULATION GENETICS OF *Artemia*, Tesis doctoral, Univ. College of Swansea, 438 pp.
- Ayala, F. J. 1980. GENETICA MOLECULAR Y EVOLUCION, En: Evolución Molecular (Ed. Ayala, F. J.) Ed. Omega, Barcelona, España. 1-20.
- Ayala, F. J. y J. A. Kiger Jr. 1984. GENETICA MODERNA, Fondo Educativo Interamericano, México, 836 pp.
- Barnes, R. D. 1985. ZOOLOGIA DE INVERTEBRADOS, 4ed. Edit. Interamericana S. A. de C. V., México, 1157 pp.
- De Matthaeis, E., Allegrucci, G., Cesaroni, D., Sbordoni, M. y Sbordoni, V. 1983. GENETIC DIFFERENTIATION BETWEEN *Penaeus kerathurus* and *P. japonicus* (crustacea, decapoda), Marine Ecology, 12: 191-197.
- Dobzhansky, T., Ayala, F. J., Stebbins, L. y Valentine, J. 1980. EVOLUCION. Ed. Omega, Barcelona, España. 558 pp.
- Johnson, G.R. 1974. ENZYME POLIMORPHISM AND METABOLISM, Science, 184: 28-37.
- Lester, L. J. 1979. POPULATION GENETICS OF PENAEID SHRIMP FROM GULF OF MEXICO, Journal of Heredity, 70: 175-180.
- Lester, L. J. 1983. DEVELOPING A SELECTIVE BREEDING PROGRAM FOR PENAEID SHRIMP MARICULTURE, Aquaculture, 33: 41-50.

- Hernández-Carvallo, A. 1976. SINALOA Y ALGUNOS ASPECTOS DE SU INDUSTRIA CAMARONERA, En: Memorias del Simposio sobre Biología y Dinámica Poblacional de Camarones, Guaymas, Son., del 8 al 13 de agosto de 1976.
- En
- Martínez-Rojas-Reynoso, M. K. 1990. DISTRIBUCION ESPACIAL Y REGISTROS CIRCADIANOS DE TEMPERATURA, SALINIDAD Y OXIGENO DISUELTOS EN EL DELTA DEL RIO COLORADO, Tesis de licenciatura, F. C. M., U. A. B. C., Ensenada, B. C., México, 60 pp.
- Mitton, J. B., M. C. Grant. 1984. ASSOCIATIONS AMONG PROTEIN HETEROZYGOSITY, GROWTH RATE AND DEVELOPMENTAL HOMEOSTASIS, *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 479-499.
- Mulley, J. C. y Latter, B. D. H. 1980. GENETICS VARIATION AND EVOLUTIONARY RELATIONSHIPS WITHIN A GROUP OF THIRTEEN SPECIES OF PENAEID SHRIMP PRAWNS, *Evolution*, 34(5): 904-916.
- Pares-Sevilla, A. 1988. PROGRAMA ACTUAL DE LA CAMARONICULTURA EN SINALOA, En: *Acuavisión*, año III, No.13.
- Poulik, M. D. 1957. STARCH GEL ELECTROPHORESIS IN A DISCONTINUOUS SYSTEM OF BUFFER, *Nature*, 180: 1477-1479.

- Rodríguez-Cruz, M. C. 1976. SINOPSIS BIOLOGICA DE LAS ESPECIES DEL GENERO *Penaeus* DEL PACIFICO MEXICANO, En: Memorias del Simposio de Biología y Dinámica poblacional de camarones, Guaymas, Son., del 8 al 13 de agosto de 1976, 282-316.
- Rosa-Vélez, J. 1986. VARIABILIDAD GENETICA POBLACIONAL EN OSTIONES DE LA ESPECIE *Crassostrea virginica* DEL GOLFO DE MEXICO, Tesis doctoral, U. N. A. M., 124 pp.
- Rosa-Vélez, J. 1989. "CARACTERIZACION GENETICA DE LAS POBLACIONES DE PENEIDOS COMERCIALES DEL GOLFO DE CALIFORNIA". Propuesta de proyecto para la Dirección General de Investigación Científica y Superior Académica. S. E. P. por parte de la F. C. M.- U. A. B. C.
- Rosa-Vélez, de la J. y Rodríguez-Romero, F. 1989. ENFOQUE GENETICO PARA EL ANALISIS DE POBLACIONES DE RECURSOS PESQUEROS: El caso de la población ostrícola de la laguna de Términos, Camp., En: Temas de Oceanografía Biológica en México (Ed. Rosa-Vélez y Gonzalez-Farías), U.A.B.C., 255-284.
- Ruiz-Durá, M. F. 1985a. EL CICLO BIOLOGICO DE LOS CAMARONES PENEIDOS, En: Técnica Pesquera, 18(208): 12-15.
- Ruiz-Durá, M. F. 1985b. RECURSOS PESQUEROS DE LAS COSTAS DE MEXICO, Edit. Limusa; México, D.F.: 209 pp.

- Schaal, B. A. y W. W. Anderson 1974. AN OUTLINE OF TECHNIQUES FOR STARCH GEL ELECTROPHORESIS OF ENZIMES FROM THE AMERICAN OYSTER *Crassostrea virginica*, GMELIN. Technical report series No. 74-3. Georgia Marine Science Center, 2-17.
- Selander, R. K. 1980. VARIACION GENETICA EN LAS POBLACIONES NATURALES, En: Evolución Molecular (Ed. Ayala, F. J.), Edit. Omega, Barcelona, España, 21-46.
- Selander, R. K., D. W. Kaufman. 1973. GENETIC VARIABILITY AND STRATEGIES OF ADAPTATION IN ANIMALS, Proc. Nat. Acad. Sci. 70 (6): 1875-1877.
- Selander, R. K., M. H. Smith, J. Y. Yang, W. E. Johnson y J. B. Gentry 1971. BIOCHEMICAL POLYMORFISM AND SYSTEMATICS IN THE GENUS *Peromyscus* I, Variation in the old field mouse (*Peromyscus polionatus*), Stud. Genet., 6: 19-90.
- Shaw, C. R. y R. Prasad 1970. STARCH GEL ELECTROPHORESIS OF ENZIME, A Compilation of recipes, Biochem. Genet., 4: 297-320.
- Shaw, C. R. y A. L. Koen 1968. STARCH GEL ZONE ELECTROPHORESIS OF ENZIMES, In: Smith, I., (ed) Chromatographic and electrophoresis Techniques, Chapter 9, Vol. II, Interscience Publ. N. Y. 325-364.

- Vázquez, H. M. 1976. DISTRIBUCION Y DENSIDAD DEL CAMARON CAJE (*Penaeus californiensis*) EN LA TEMPORADA 1974-1975, En: Memorias del Simposio de Biología y Dinámica Poblacional de Camarones, Guaymas, Son., del 8 al 13 de agosto de 1976, 379-386.
- White, A., P. Handler, R. L. Smith, R. Hill y R. I. Lehman. 1973. PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY, Mc Graw Hill, Quinta edición, 1295 pp.
- Zar, H., J. 1984. BIostatistical ANALYSIS, Prentice-Hall, Second edition, 318-320.