

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



Relaciones filogeográficas entre especies y
subespecies de *Fundulus* (Pisces: Fundulidae) de la
Península de Baja California, México.

TESIS

Que para obtener el grado de
Doctor en Oceanografía Costera

Presenta

Faustino Camarena Rosales

Ensenada, B.C., Diciembre 1999.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS

Relaciones filogeográficas entre especies y subespecies de
Fundulus (Pisces: Fundulidae) de la Península de Baja
California, México.

TESIS

Que para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Oceanografía Costera

Presenta:


Faustino Camarena Rosales

Aprobada por:



Dr. Jorge de la Rosa Vélez


Director de Tesis




Dr. Manuel Grijalva Chon
Sinodal



Dr. Gorgonio Ruiz Campos
Sinodal



Dr. Francisco Correa Sandoval
Sinodal



Dr. Guillermo Villarreal Chávez
Sinodal

Resumen

Fundulus lima es una especie endémica de los oasis de Baja California Sur, México. Se relaciona filogenéticamente con *Fundulus parvipinnis*, una forma periférica de la vertiente del Pacífico de la península de Baja California. Con el propósito de explorar las relaciones evolutivas entre estas dos especies, se efectuó un análisis biométrico y se determinó la variabilidad alozímica de *F. lima* y *F. parvipinnis* ssp. El análisis discriminante de las variables biométricas clasificó los organismos en tres grupos ($p < 0.001$), los cuales corresponden a cada una de las poblaciones estudiadas. Los caracteres biométricos que determinaron la función discriminante fueron el número de escamas en la serie lateral y la distancia postanal/longitud patrón. La variabilidad genética promedio observada en *F. parvipinnis* ssp., se encuentra dentro de los intervalos reportados para otros peces. La especie *F. lima* mostró menores niveles de variabilidad genética en comparación con *F. parvipinnis*, tanto en el porcentaje de loci polimórficos (18.8 % para *F. lima* vs. 25.0 % para *F. parvipinnis* ssp.) como en la heterocigosidad esperada (0.060 para *F. lima* vs. 0.099 para *F. p. brevis* y 0.089 para *F. p. parvipinnis*). Los valores mayores de distancia genética de Nei se registraron entre *F. lima* y *F. p. parvipinnis* ($D = 0.247$). Las distancias genéticas entre *F. parvipinnis* ssp. fue de 0.075. Con base en los resultados obtenidos, se propone la hipótesis de la dispersión del ancestro de *F. parvipinnis* en dirección norte-sur a partir de la región más septentrional de su distribución actual, y que a través de un gradiente ambiental dio origen a las actuales subespecies de *F. parvipinnis* por un proceso de especiación parapátrico. El origen de *F. lima* se infiere que fue a partir de organismos de *F. parvipinnis* que remontaron arroyos costeros de la vertiente Pacífico, quedando aislados, dando lugar a un proceso de especiación alopátrico vicariante. Ambos procesos sucedieron probablemente durante el Pleistoceno.

Abstract

Fundulus lima is an endemic species from the oases of Baja California Sur, México. It is phylogenetically related to *Fundulus parvipinnis*, a peripheral form distributed along the Pacific drainage of the peninsula of Baja California. In order to survey the evolutionary relationship between these two species, biometrics and allozymic variability analysis of *F. lima* and *F. parvipinnis* ssp. were performed. The discriminant function analysis of biometrics characters classified organisms into three groups ($p < 0.001$), which correspond to each studied population. The biometrics characters determined by discriminant function were the lateral scales and caudal distance/standard. Mean genetic variability recorded in *F. parvipinnis* ssp., agreed with those previously reported values in other fish species. *F. lima* showed lower genetic variability levels than *F. parvipinnis* ssp., both in the polymorphic loci ratio (18.8 % in *F. lima* vs. 25.0 % in *F. parvipinnis* ssp.) as well as in expected heterozygosity (0.060 in *F. lima* vs 0.099 in *F. p. brevis* and 0.089 in *F. p. parvipinnis*). The higher Nei's genetic distance values were recorded between *F. lima* and *F. p. parvipinnis* ($D = 0.247$). The genetic distance between subspecies of *F. parvipinnis* was 0.075. An hypothesis on the dispersion of *F. parvipinnis* ancestor from North to South is proposed, with a starting point from its current northernmost distribution area, and along an environmental gradient that originated the two current subspecies via parapatric speciation. The origin of *F. lima* is supposed from *F. parvipinnis* organisms that dispersed upstream through the coastal streams of the Pacific drainage, then isolated, and undergoing a vicariant allopatric speciation process. Both events occurred during the Pleistocene.

Dedicatoria

A mi tribu

Blanca Martina del Carmen

Samanta

Selene

Cinthia

Sonia del Carmen

Agradecimientos

En principio agradezco con todo respeto al Dr. Jorge de la Rosa Vélez, asesor y director de tesis, quien siempre ha mantenido una muy fina atención para apoyarme académicamente y como amigo, particularmente durante el transcurso de los estudios doctorales, brindando invalorable sugerencias para el desarrollo del presente trabajo. Considero que su fineza produjo que sobrepasara favorablemente sus funciones de asesor.

A los miembros del comité de estudios: Dr. Gorgonio Ruiz Campos, que sus aportaciones fueron claves en la realización del presente trabajo y sus agudas críticas al manuscrito permitieron resultara de mayor riqueza.

Al Dr. Francisco Correa Sandoval, que en todo momento me mostró su ayuda, brindándome valiosas sugerencias y recomendaciones para la realización del trabajo.

Al Dr. Manuel Grijalva Chon, a quien seguí los pasos de su tesis doctoral y que me brindo su entero apoyo.

Al Dr. Guillermo Villareal Chávez, por sus acertados comentarios y sugerencias.

Mi gratitud a Víctor Anguiano y Javier Flores por su ayuda en el trabajo de campo, a Isela Pérez por su colaboración en la estandarización de métodos, a José Zavala y Mónica Castellanos por su auxilio en el laboratorio de Biología Molecular, y al Sr. Gabriel Espinoza, por su cooperación en el Oasis de San Ignacio.

A Miguel A. Cervantes y Luis Enríquez, por su amistad, camaradería y ayuda, tanto en el trabajo de laboratorio como para escuchar rock metálica en el laboratorio.

A los académicos que impartieron cursos en el programa de posgrado, especialmente al Dr. Víctor Camacho, M.C. Jorge Ledezma y al mismo Dr. Jorge de la Rosa, quienes me mostraron con su ejemplo el valor de un muy buen maestro.

A un buen amigo Rafael Solana que me brindó valiosos consejos así como asesorías que resultaron claves para el análisis estadístico.

A Marcela Conroy por todo su apoyo.

A M. C. Irma Rivera Garibaldi por todo su apoyo brindado en lo personal y en su momento, como Directora de la Facultad de Ciencias.

A mi amigo y compañero M. C. Ernesto Campos, quien me ha brindado valiosos consejos y que con su persistente trabajo académico en todo este tiempo de conocernos, me ha mostrado el valor de la investigación.

A la Dra. Meredith Gould, quien tal vez sin saberlo fue una gran fuente de inspiración para involucrarme en la Biología Molecular.

Las fotografías utilizadas en el texto, son gracias al apoyo del Dr. Gorgonio Ruiz Campos.

En la realización de los estudios doctorales se contó con el apoyo de la Universidad Autónoma de Baja California, a través de las unidades académicas: Facultad de Ciencias; Facultad de Ciencias Marinas y del Instituto de Investigaciones Oceanológicas.

Para efectuar los estudios se recibieron apoyos de la Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica, SEP (P/PROMEPA UABC-98-03) y del programa SUPERA de la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior, A.C. (A94-1369).

Para efectuar la investigación se recibió el apoyo de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, a través del Proyecto L013 “Estudio de la variabilidad genética de *Fundulus lima* y sus relaciones filogeográficas con otros fundúlidos (Pisces: Fundulidae) de la península de Baja California, México”.

INDICE

Introducción	1
Antecedentes	4
Area de estudio	8
Objetivos	13
Objetivo general	13
Objetivos particulares	13
Materiales y Métodos	14
Recolecta de organismos	14
Análisis biométrico	16
Análisis alozímico	18
Resultados.	22
Análisis biométrico	22
Análisis alozímico	28
Discusión.	33
Análisis biométrico	33
Análisis alozímico	34
Evolución de los fundúlidos peninsulares	36
Conclusiones	42
Literatura citada	43
ANEXO I. Caracteres diagnósticos de los fundúlidos	53
Diagnosis del género <i>Fundulus</i>	53
Diagnosis de <i>Fundulus parvipinnis</i>	53
Diagnosis de <i>Fundulus lima</i>	55

ANEXO II. Caracteres biométricos _____	58
ANEXO III. Protocolos para alozimas _____	60
Preparación del gel de almidón _____	60
Sistemas enzimáticos _____	62
Amortiguadores para electroforesis _____	68
Soluciones stock _____	68
ANEXO IV. Glosario _____	70
ADDENDUM. Propuesta de manejo _____	79
Introducción _____	79
Conservación de <i>F. lima</i> _____	80
Protección del hábitat. _____	81
Conservación <i>ex situ</i> . _____	82
Difusión. _____	84
Síntesis _____	85
Indice de protocolos _____	88

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Características biométricas para la diagnosis de las especies y subespecies de fundúlidos de la Península de Baja California, con base en Evermann (1908); Miller y Hubbs (1954), y Miller y Lea (1972).....	2
Tabla II. Resumen de los resultados de las condiciones electroforéticas..	20
Tabla III. Correlaciones de la longitud patrón contra sus respectivas medidas morfométricas para los fundúlidos de la península de Baja California.	25
Tabla IV. Resumen del análisis de función discriminante.....	26
Tabla V. Matriz de la estructura de factores (variables de correlación - raíces canónicas).26	
Tabla VI. Matriz de clasificación del análisis discriminante..	27
Tabla VII. Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis.	27
Tabla VIII. Variación alélica de <i>Fundulus lima</i> , <i>F. parvipinnis brevis</i> y <i>F. parvipinnis parvipinnis</i>	29
Tabla IX. Resumen de la variación genética de los fundúlidos de la península de Baja California..	30
Tabla X. Resumen de los valores de la varianza estandarizada, comparación de las tres poblaciones de fundúlidos peninsulares.....	31
Tabla XI. Matriz de los coeficientes de distancia (bajo la diagonal) y de similitud genética (sobre la diagonal), con base en la fórmula sin sesgo de Nei (1978).	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de los fundúlidos en la Península de Baja California, México. ____	1
Figura 2. Espécimen de <i>Fundulus lima</i> , del Oasis de San Ignacio, B.C.S., México. ____	5
Figura 3. Espécimen de <i>Fundulus parvipinnis parvipinnis</i> de la Bocana del Arroyo de La Misión, B. C, México. _____	6
Figura 4. Espécimen de <i>Fundulus parvipinnis brevis</i> de Bahía Magdalena, B.C.S., México. _____	7
Figura 5. Provincias biogeográficas de la costa Pacífico de la Península de Baja California y sitios de recolecta para el presente estudio. _____	10
Figura 6. Localidades de recolecta de <i>Fundulus parvipinnis parvipinnis</i> en el estuario del Arroyo de La Misión (B.C.). _____	15
Figura 7. Sitios de recolecta de <i>Fundulus parvipinnis brevis</i> , en Bahía Magdalena (B.C.S.). _____	15
Figura 8. Mapa del Oasis de San Ignacio (B.C.S.), donde se muestran los sitios de recolecta de <i>Fundulus lima</i> . _____	16
Fig. 9. Caracteres merísticos y morfométricos considerados. _____	17
Figura 10. Esquema de la distribución de bandas en Peptidasa B y denominación de los alelos. _____	21
Figura 11. Descriptores estadísticos de los caracteres merísticos de los fundúlidos peninsulares. _____	22
Figura 12. Gráficas de cajas y bigotes de las proporciones con la longitud patrón en los fundúlidos de la península de Baja California. _____	23
Figura 13. Gráficas de cajas y bigotes de las proporciones con las longitudes patrón y cefálica en los fundúlidos de la península de Baja California. _____	24

Figura 14. Gráficas del análisis de función discriminante de la raíz 1 contra la raíz 2, de los fundúlidos peninsulares. _____	28
Figura 15. Dendrogramas de las distancias biométricas y genéticas entre los fundúlidos de la península de Baja California . A) Distancia de Malahanobis obtenidas de los datos biométricos y B) distancias genéticas de Nei (1978). _____	32
Figura 16. Hipótesis propuesta sobre la dispersión de <i>F. parvipinnis</i> en la Península de Baja California. _____	37
Figura 17. Hipótesis de dispersión fluvial de <i>F. parvipinnis</i> hacia los actuales oasis, donde por aislamiento geográfico originó a <i>F. lima</i> . _____	38
Figura I. Fotografía de ejemplar macho activo de <i>Fundulus parvipinnis parvipinnis</i> , de la colección de referencia de Ictiología de la Facultad de Ciencias, U.A.B.C _____	54
Figura II. Fotografía de ejemplar macho activo de <i>Fundulus lima</i> , de la colección de Ictiología de la Facultad de Ciencias, U.A.B.C. _____	56

Introducción

Dos especies de la familia Fundulidae (Parenti, 1981) habitan la vertiente Pacífico de la península de Baja California, México (Figura 1). La primera, *Fundulus lima* Vaillant, 1894, está confinada continentalmente en los oasis entre San Ignacio y San Luis Gonzága, Baja California Sur (B.C.S.) (Ruiz-Campos y Contreras-Balderas, 1987; Reynoso-Mendoza, 1994), y está en la categoría de amenazada (SEDESOL, 1994). La segunda especie, *Fundulus parvipinnis*, es de concurrencia esporádica en arroyos de la provincia Californiana, presenta dos subespecies eurihalinas: *F. parvipinnis parvipinnis* Girard, 1854, distribuida de Monterey, California (EE.UU.) a Guerrero Negro, B.C.S. (Follett, 1960; De la Cruz-Agüero *et al.*, 1996); y *F. parvipinnis brevis* Osburn y Nichols, 1916, esta última restringida a Bahía Magdalena, B.C.S. (Follett, 1960).

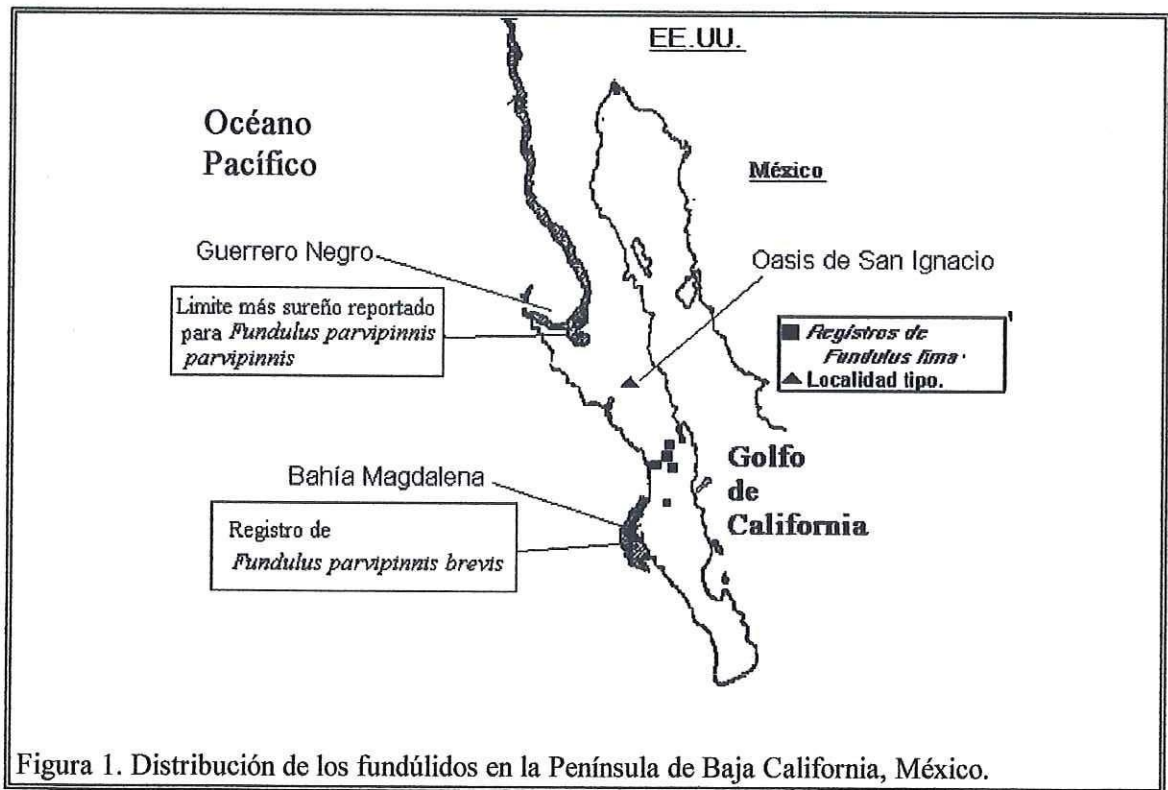


Figura 1. Distribución de los fundúlidos en la Península de Baja California, México.

La separación taxonómica de estas dos especies de fundúlidos ha sido basada tradicionalmente en sus ámbitos de distribución geográfica, ya que exhiben diferencias morfológicas sutiles. Los caracteres diagnósticos son: la proporción del diámetro ocular respecto a la longitud cefálica y la presencia de ctenas muy desarrollados en los machos de *F. lima* durante la época de cortejo (Evermann, 1908). La diagnosis para las subespecies de *F. parvipinnis* está basada en el número de escamas en la serie lateral y en el de vértebras (Miller y Hubbs, 1954; Miller y Lea, 1972); sin embargo, Myers (1930) verificó a las subespecies de *F. parvipinnis* con los organismos de la serie tipo y encontró que algunos individuos de *F. p. brevis* no pudieron ser diferenciados de *F. p. parvipinnis* (Tabla I). En el Anexo 1 se presentan detalladas las características diagnósticas de los fundúlidos del Pacífico.

Tabla I. Características biométricas para la diagnosis de las especies y subespecies de fundúlidos de la Península de Baja California, con base en Evermann (1908); Miller y Hubbs (1954), y Miller y Lea (1972).

	<i>F.lima</i>	<i>F.parvipinnis</i> <i>parvipinnis</i>	<i>F.parvipinnis</i> <i>brevis</i>
Longitud cefálica / diámetro ocular	4.5	< 4.2	< 4.2
Radios en aleta dorsal	12	11 a 15	13 a 15
Radios en aleta anal	12	11 a 16	12 a 16
Escamas en la serie longitudinal	-	33 a 37	31 a 34
Número de vértebras (con urostilo)	-	35 a 37	32 a 34
Presencia de ctenas en machos durante la época del cortejo	muy desarrollados	presentes	posiblemente presentes

Las especies *F. lima* y *F. parvipinnis* se han considerado estrechamente relacionadas con base en su similitud morfológica y distribución geográfica cercana

(Miller, 1958; Follett, 1960). Recientemente, a partir de secuencias del citocromo *b*, se confirmó el origen monofilético de ambas taxa, además se postuló la hipótesis de que los fundúlidos de la costa oriental de Norteamérica se dispersaron hacia la costa del Pacífico a través de Panamá, previo a la formación del istmo, la cual ocurrió a principios del Plioceno (Bernardi y Powers, 1995).

En las últimas décadas, el análisis de alozimas ha permitido resolver controversias en la sistemática de peces a nivel intraespecífico (Avise, 1974), para definir nuevas especies o subespecies (Ayala, 1975), reconocer poblaciones (Grijalva-Chon *et al.*, 1996) o especies (Grant *et al.*, 1980) y establecer relaciones filogenéticas entre poblaciones conespecíficas o entre especies estrechamente relacionadas (Avise, 1994; Park y Moran, 1994).

En relación a los estudios alozímicos del género *Fundulus*, éstos han sido limitados a unas pocas especies de la costa Atlántica de Norteamérica (Cashner *et al.*, 1992), para un simple locus (Mitton, 1993) o bien para diferentes poblaciones de una misma especie (DiMichele *et al.*, 1986; Grady *et al.*, 1990; Powers *et al.*, 1991).

Con el objetivo de contribuir al entendimiento de las relaciones filogeográficas de los fundúlidos de la Península de Baja California, en el presente trabajo se evaluaron los caracteres biométricos y alozímicos diagnósticos, que brindan evidencias del origen evolutivo y biogeográfico de estas taxa, confirmando así su estatus nomenclatural actual.

Finalmente se presenta en el addendum una propuesta de manejo para la conservación de *F. lima*.

Antecedentes

Las especies de la familia Fundulidae que habitan la cuenca Atlántica de Norteamérica se han estudiado ampliamente; no obstante, las especies del Pacífico son poco conocidas (Cashner *et al.*, 1992). El género *Fundulus* fue incluido anteriormente en la subfamilia Fundulinae de la familia Cyprinodontidae (Myers, 1951). Posteriormente, a la subfamilia Fundulinae se le confirió el estatus de familia (Fundulidae), en la cual se incluyeron cinco géneros: *Adinia*, *Fundulus*, *Lucania*, *Leptolucania* y *Plancterus*, distribuidos en Norte y Centro América, incluyendo Cuba y Las Bermudas (Parenti, 1981).

Wiley (1986) empleó las características morfológicas para proponer las relaciones evolutivas del género *Fundulus* y agrupó a las especies en cuatro subgéneros, con excepción de *F. lima* y *F. parvipinnis* que fueron consideradas significativamente distintas del resto de las especies, del género. Posteriormente, Cashner *et al.* (1992) agrupó a estas especies dentro del subgénero monofilético *Xenisma*, con base en estudios morfológicos aunque las sinamorfias para apoyar al subgénero aún no han sido aportadas.

La clasificación taxonómica de las especies de fundúlidos del Pacífico es la siguiente:

Orden: Cyprinodontiformes.

Familia: Fundulidae

Subfamilia: Fundulinae.

Género: *Fundulus*

Subgénero: Xenisma.

Especies: *Fundulus lima* Vaillant, 1894

Fundulus parvipinnis Girard, 1854

Subespecies

Fundulus parvipinnis parvipinnis Girard, 1854

Fundulus parvipinnis brevis Osburn y Nichols, 1916

Para las especies de *Fundulus* de la vertiente del Pacífico, se han efectuado estudios taxonómicos y de distribución (Jordan y Evermann, 1896; Evermann, 1908; Myers, 1927, 1930; Reynoso-Mendoza, 1994; Ruiz-Campos y Alaniz-García, 1995; Ruiz-Campos *et al.*, 1998a; 1998b).

La especie *F. lima* (Figura 2) es conocida como “Baja killifish” o “sardinilla de la península” (Mayden *et al.*, 1992) y su estado de conservación, basado en una evaluación bioecológica reciente, se consideró en riesgo de extinción (Ruiz-Campos *et al.*, 1998a). Los hábitos y las relaciones tróficas de este pez endémico fueron estudiados en el oasis de San Ignacio, donde se cuantificó un traslape trófico significativo con el pecílido exótico *Xiphophorus helleri* (Alaniz-García, 1995).

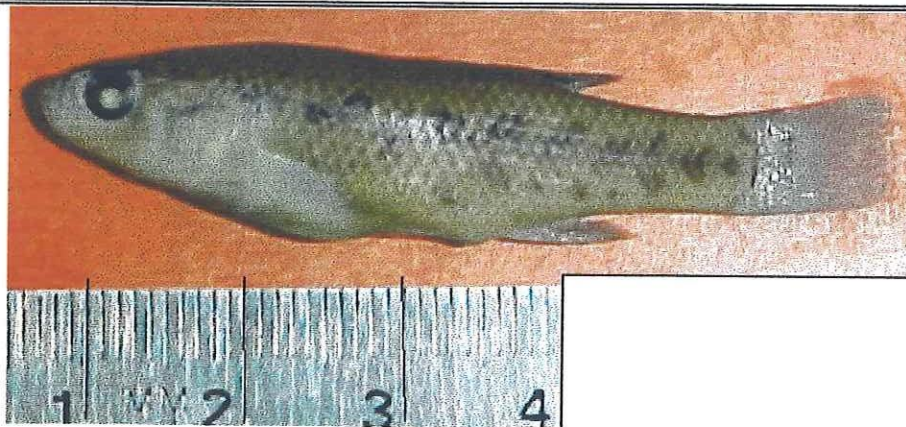


Figura 2. Especimen de *Fundulus lima*, del Oasis de San Ignacio, B.C.S., México.

Brill (1982) efectuó observaciones del comportamiento reproductivo y señaló que las ctenas de sus escamas funcionan como estructuras de contacto en los machos, con las cuales el macho “frota” a la hembra durante la cópula.

En cuanto a *F. parvipinnis* (Figura 3), también conocido como “California Killifish” (Mayden *et al.*, 1992) o "guayacón californiano" (Cabrera-Santillán, 1997), se considera estable su estado de conservación (Ruiz-Campos *et al.*, 1998b).

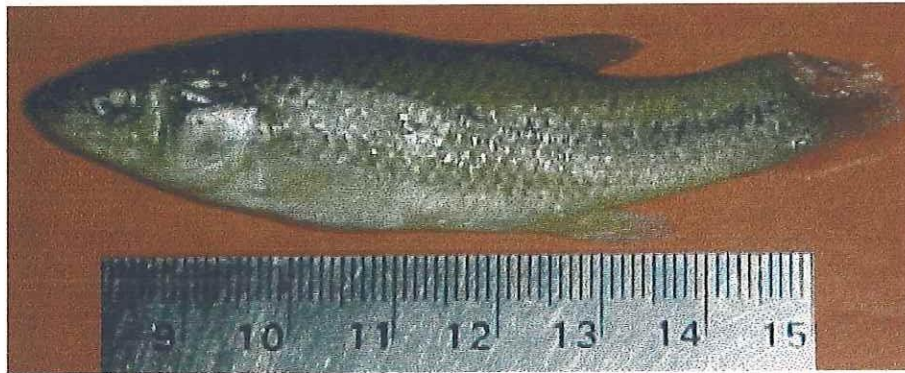


Figura 3. Espécimen de *Fundulus parvipinnis parvipinnis* de la Bocana del Arroyo de La Misión, B. C, México.

De *F. parvipinnis parvipinnis* se efectuaron registros de concurrencia en los arroyos costeros de California (Miller, 1939; Moyle, 1976) y noroeste de Baja California (Miller, 1943; Ruiz-Campos *et al.*, 1998b), así como en las lagunas costeras de Ojo de Liebre y de Guerrero Negro, B.C.S. (De la Cruz-Agüero *et al.*, 1996).

La época de reproducción de *F. parvipinnis* en California se estableció entre los meses de abril a mayo (Fritz, 1975). Para la península de Baja California, Ruiz-Campos *et*

al. (1998b) distinguieron organismos con coloración nupcial entre los meses de febrero a agosto, y la presencia de organismos sexualmente activos entre abril y mayo.

De la subespecie *F. parvipinnis brevis* (Figura 4) sólo existen los reportes del reconocimiento de la subespecie (Osburn y Nichols, 1916) y en aspectos relacionados con su identificación (Myers, 1930; Miller y Hubbs, 1954; Follett, 1960; Miller y Lea, 1972).



Figura 4. Especimen de *Fundulus parvipinnis brevis* de Bahía Magdalena, B.C.S., México.

Area de estudio

La península de Baja California ha presentado una intensa transformación geológica a partir del Cretácico. En dicho período, la actual península bajacaliforniana se encontraba unida al macizo continental y estaba en su mayor parte sumergida (Ferrusquía-Villafranca, 1993).

En la porción central de la península existen evidencias de las condiciones del Eoceno. La formación de Bateques, ubicada a unos 50 kilómetros del Oasis de San Ignacio, contiene fauna de microfósiles que indican condiciones marinas costeras con aguas cálidas y evidencias de elementos faunísticos del Mar de Tethys (Squires y Demetrian, 1992). Posteriormente, según el modelo geodinámico propuesto por Dickinson (1977), la placa del Farallón, la cual fue subyacente del Vizcaíno, produjo el levantamiento de la región por subducción, desde el Cretácico hasta el Paleoceno, para intensificarse durante el Oligoceno, con un alto grado de erosión.

Al finalizar la subducción en el Mioceno Medio y Superior, cuando se separó la península del macizo continental, se formó el protogolfo de California. En el Mioceno y Plioceno continúa la dinámica de apertura del Golfo de California. La emersión final de la península sobre el nivel del mar ocurrió después del Mioceno por el surgimiento del complejo volcánico San Andrés-Cedros, al Oeste de la Región del Vizcaíno, así como por el empuje de la cuenca neógena de Santa Rosalía (Padilla *et al.*, 1991).

En el Cuaternario, la parte central de la península (Santa Rosalía) se elevó por levantamiento del bloque de California y por efectos locales vía evolución magmática de la caldera La Reforma. Durante el Pleistoceno y principios de Holoceno, la presencia del batolito peninsular y la Sierra La Giganta, delimitaron el contorno peninsular actual (Padilla *et al.*, 1991).

Como resultado de los eventos antes descritos, las condiciones hidrológicas de la península han cambiado históricamente. La parte central peninsular presentó una fuerte transformación climática durante el Cuaternario, al cambiar de un área mesófila a una xerófila con biota de afinidad árida (Grismer y McGuire, 1993). Con base en evidencias fósiles y sedimentológicas, se considera que esta región presentó a principios del Cuaternario lluvias torrenciales biestacionales de tipo monzónico en verano y precipitaciones intensas en invierno; posteriormente en el Wisconsiniano ocurrió la última glaciación completa. En el Holoceno disminuyó gradualmente la lluvia torrencial hasta tener las condiciones climáticas áridas actuales de esta región (Van Devender *et al.*, 1987).

De los sistemas peninsulares destacan los oasis que albergan comunidades faunísticas relictas de origen mesófilo, como reptiles y anfibios (Grismer y McGuire, 1993). El Oasis de San Ignacio es la localidad tipo de *F. lima*, y es considerado un hábitat reducido y con impacto antropogénico aparente (Grismer y McGuire, 1993). Se encuentra dentro de la reserva de la biosfera del Vizcaíno y, en consecuencia, sujeta a regulaciones en cuanto al manejo de sus recursos (Breceda *et al.*, 1991). El cuerpo de agua tiene un ancho promedio de 15 a 20 m y una longitud de aproximadamente 2 km. Está dividido por un puente que conduce al poblado de San Ignacio. El manantial que surte al oasis presenta temperaturas en el intervalo de 23°C a 29°C, con ligeras variaciones anuales (Alaniz-García, 1995; Ruiz-Campos y Alaniz-García, 1995).

En cuanto a la zona costera de la península de Baja California, en la porción noroeste se encuentra la Provincia biogeográfica Californiana, que va desde Conception Point, California, EE.UU. (34°30' N) hasta Punta Eugenia, B.C.S. (28° N), al suroeste inicia la Provincia Mexicana (23° N), y en el área intermedia, una amplia zona de transición entre estas provincias (28° a 23° N) (Briggs, 1974). Los fundúlidos costeros

habitan en los sistemas fluvio-estuarinos y de marismas de la provincia Californiana y en la zona de transición con la provincia Mexicana. No existen registros costeros entre Bahía Magdalena y Guerrero Negro (B.C.S.), que corresponde a la región norte de la zona de transición (Figura 5).

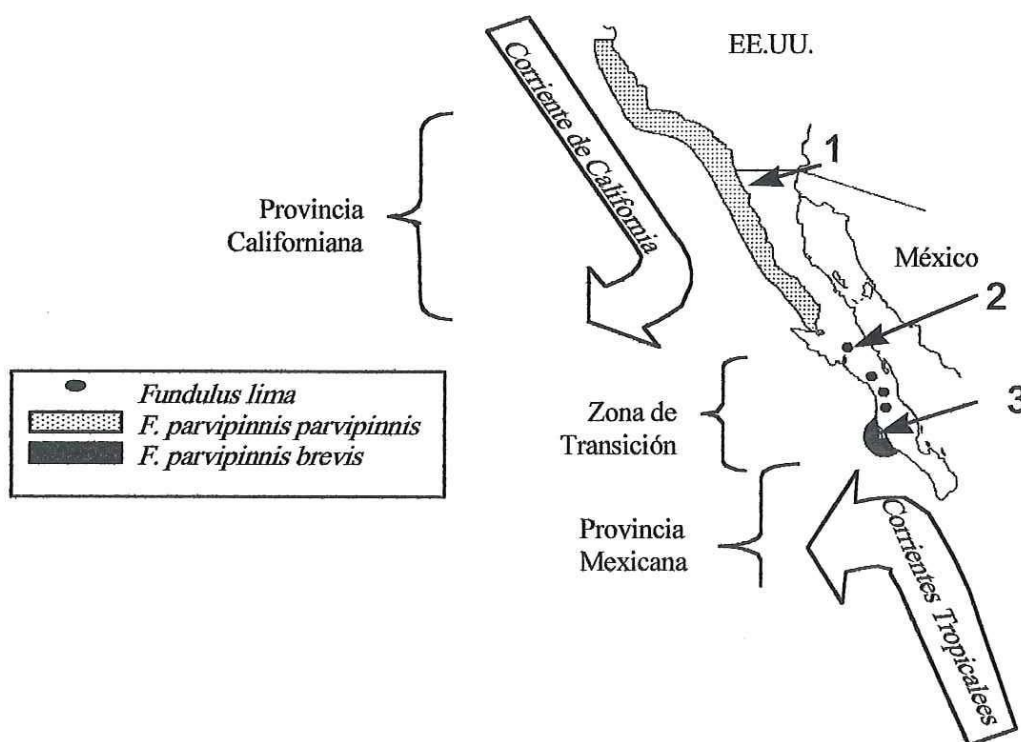


Figura 5. Provincias biogeográficas de la costa Pacífico de la Península de Baja California y sitios de recolecta para el presente estudio. Simbología: (1) Estuario del Arroyo La Misión, (2) Oasis de San Ignacio y (3) Bahía Magdalena.

En la porción central de la provincia Californiana se ubica aproximadamente el Estuario del Arroyo La Misión, B.C., también conocido como Boca del Arroyo Guadalupe. Esta localidad está situada casi en el centro de la distribución de la especie *F.*

parvipinnis y a 70 kilómetros al sur de la localidad tipo ubicada en San Diego, Ca. (EE.UU.). En la desembocadura del arroyo se registran fluctuaciones estacionales en las condiciones ambientales por el efecto del cierre de la boca, donde la entrada de agua marina se presenta en forma temporal. El Estuario tiene una longitud de 1.3 kilómetros y ancho variable (entre 20 y 200 metros), presentando numerosas pozas, canales e islotes, lo cual genera una gama heterogénea de microhábitats (Camarena-Rosales, *et al.*, 1999).

En la zona de transición entre las provincias Californiana y Mexicana, se encuentra Bahía Magdalena, que es la localidad tipo de *F. p. brevis* y además el sitio más austral de la distribución del género *Fundulus* (Follett, 1960). Esta bahía contiene especies cuyo origen radica en las provincias Californiana, Panámica, Corteziana y Mexicana (Briggs, 1974). Bahía Magdalena es un amplio sistema costero limitado en la parte oriental por la península de Baja California, al sur por la Barra Flor de Malva y al occidente por las islas Magdalena, Margarita y Creciente. El eje máximo del sistema es de 108 Kilómetros de longitud y un ancho máximo de 22 km. En el interior del sistema se encuentra, hacia el norte, el puerto Adolfo López Mateos y en la parte central, el puerto de San Carlos.

Desde el punto de vista biogeográfico, para la ictiofauna continental de la península de Baja California, Follett (1960) reportó 17 familias, 25 géneros y 29 especies, entre las cuales *F. lima* fue la única especie endémica. Posteriormente, Ruiz-Campos y Contreras-Balderas (1987) incrementaron la lista a 59 especies, de las cuales 21 son exóticas y 38 son nativas, agrupando dentro de las nativas a *F. parvipinnis*.

La fauna íctica continental peninsular no constituye un elenco discreto de especies como para ser designada "la ictiofauna nativa bajacaliforniana", si se consideran los siguientes motivos: 1) una discontinuidad hidrológica entre los arroyos costeros del sur de California y el noreste de Baja California; 2) los largos periodos de aridez evitaron la dispersión de peces a través de los estuarios; 3) la pendiente es abrupta y escarpada a lo

largo de la costa oriental de la península ha evitado la formación de estuarios y lagunas costeras; y 4) el Golfo de California es una barrera para la entrada de los peces dulceacuícolas de mesoamérica (Ruiz-Campos y Contreras-Balderas, 1987).

Una segunda especie endémica de la península, *Gobiesox juniperoserrai*, fue recientemente descrita para la región de Las Pocitas, B.C.S. Este gobiesócido tiene una gran afinidad con *G. mexicanus*, el cual se distribuye en las costas de Jalisco y Michoacán (México), y su origen se sitúa entre el Mioceno y el Plioceno, a partir de un proceso alopátrico relacionado con la deriva de la península hacia el noroeste (Espinoza-Pérez y Castro-Aguirre, 1996). En cuanto a las subespecies, resalta *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (Evermann, 1908), que habita en los arroyos de la Sierra San Pedro Mártir, B.C. Esta, tiene una gran afinidad con las formas de truchas arcoiris costeras del sur de California (EE.UU.), la que se originó por un proceso vicariante a partir de organismos ancestrales de tipo anádromo que se dispersaron a lo largo de la costa en dirección norte-sur (Ruiz-Campos y Pister, 1995).

Algunas de las especies sintópicas con *F. lima* son de origen exótico, tal como sucede en el oasis de San Ignacio, donde se registró a *Xiphophorus hellerii*, *Poecilia reticulata* y *Cyprinus carpio*, de las que destaca *X. hellerii* por su alto traslape trófico (mayor del 60%) con *F. lima* (Alaniz-García, 1995).

La ictiofauna concurrente con *F. parvipinnis* es predominantemente de estirpe marina. En el Estuario de La Misión se registraron 11 especies ícticas (Cabrera-Santillán, 1997; Ruiz-Campos *et al.*, 1998b), destacando como residentes permanentes *F. p. parvipinnis* y *Atherinops affinis*, con presencia temporal de *Mugil cephalus*, *Hypsopsetta guttulata* y *Gillichthys mirabilis*. El resto de especies registradas son de concurrencia esporádica (Ruiz-Campos *et al.*, 1998b). En dicha localidad, las especies introducidas son *Lepomis cyanellus* y *Gambusia affinis* (Cabrera-Santillán, 1997).

Objetivos

Objetivo general

En el presente estudio se planteó determinar los caracteres biométricos diagnósticos y la variabilidad genética poblacional del pez endémico *Fundulus lima* y de las subespecies afines *F. parvipinnis* sspp., de la península de Baja California, México, con el propósito de proponer un esquema de las relaciones evolutivas de este complejo de especies.

Objetivos particulares

- 1) Determinar los caracteres biométricos diagnósticos que permitan diferenciar a los taxa de fundúlidos de la península de Baja California.
- 2) Caracterizar mediante métodos genéticos, a *Fundulus lima*, una especie endémica de la península de Baja California y en probable peligro de extinción.
- 3) Determinar la variabilidad genética de las especies y subespecies de fundúlidos de Baja California.
- 4) Construir un esquema de las relaciones evolutivas entre las especies y subespecies del grupo en estudio, basado en las mediciones de la distancia genética.
- 5) Interpretar el esquema de las relaciones evolutivas de las especies en función de los diferentes eventos geológicos, climáticos y geográficos sucedidos en el área de distribución.

Materiales y Métodos

Recolecta de organismos

El muestreo de individuos de cada taxón estudiado se efectuó en la localidad tipo y/o en la población central de su ámbito de distribución geográfica. Con este diseño se asume que fueron recolectados individuos altamente representativos. La recolecta del material íctico se efectuó con un chinchorro (6 m x 1.5 m x 1/8") en las siguientes localidades y fechas: Bocana del Arroyo de La Misión, B.C. (*Fundulus parvipinnis parvipinnis*, 13 de noviembre de 1997) (Figura 6); Bahía Magdalena, B.C.S. (*Fundulus parvipinnis brevis*, 19 de diciembre de 1997) (Figura 7); y el oasis de San Ignacio, B.C.S. (*Fundulus lima*, 20 de diciembre de 1997) (Figura 8). Para el análisis biométrico se tomó una submuestra de 50 organismos de cada taxón y localidad. Los ejemplares se fijaron en formaldehído al 10%, posteriormente se preservaron en alcohol isopropílico al 50%, y finalmente se depositaron en la colección ictiológica de la Facultad de Ciencias, U.A.B.C. Adicionalmente, para el análisis de alozimas se tomó una segunda submuestra de 45 organismos por cada taxón, la cual se transportó en hielo seco al laboratorio, donde se conservó en congelación a -80°C, hasta su posterior procesamiento.

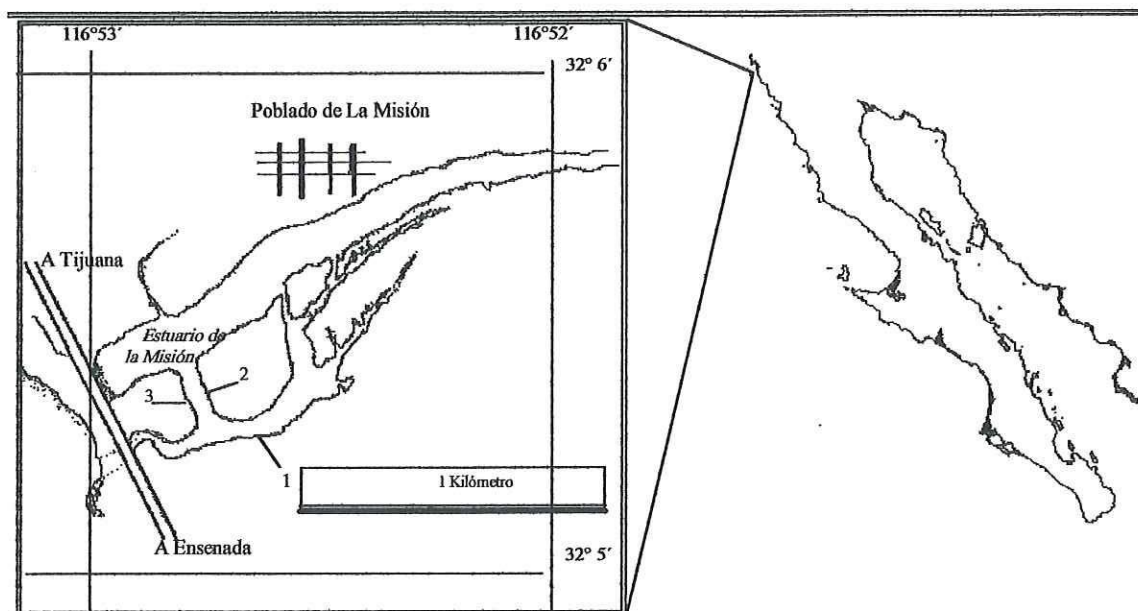


Figura 6. Localidades de recolecta de *Fundulus parvipinnis parvipinnis* en el estuario del Arroyo de La Misión (B.C.). Simbología: 1, 2 y 3: sitios donde se efectuaron los arrastres con el chinchorro.

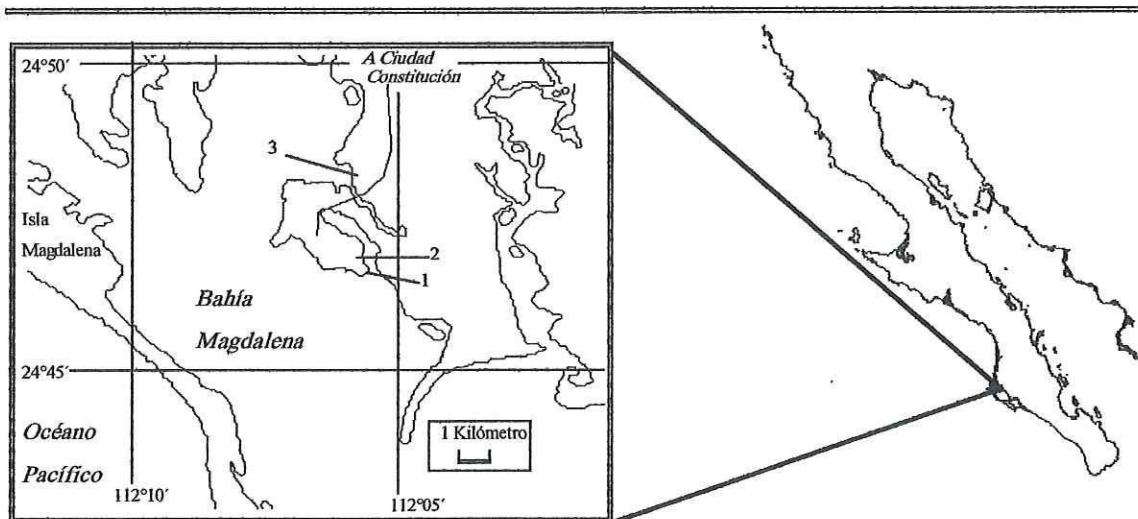


Figura 7. Sitios de recolecta de *Fundulus parvipinnis brevis*, en Bahía Magdalena (B.C.S.). Simbología: 1, 2 y 3: sitios donde se efectuaron los arrastres con el chinchorro.

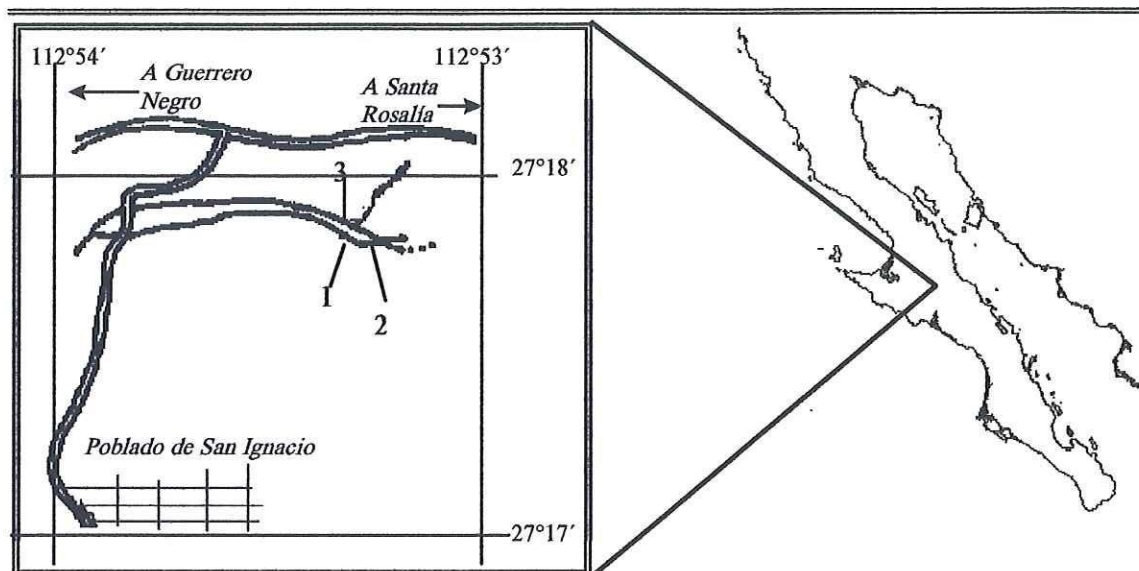


Figura 8. Mapa del Oasis de San Ignacio (B.C.S.), donde se muestran los sitios de recolecta de *Fundulus lima*. Simbología: 1, 2 y 3 sitios de arrastre con el chinchorro.

Análisis biométrico

Para el análisis biométrico se cuantificaron 16 caracteres anatómicos (Figura 9), los cuales son descritos en el Anexo 2. Las mediciones y conteos se basaron en el método estandarizado de Hubbs y Lagler (1964). Las mediciones fueron efectuadas con un vernier (precisión de 0.01 mm), excepto el diámetro ocular que se midió con un micrómetro ocular (precisión de 0.01 mm). Los caracteres merísticos se cuantificaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

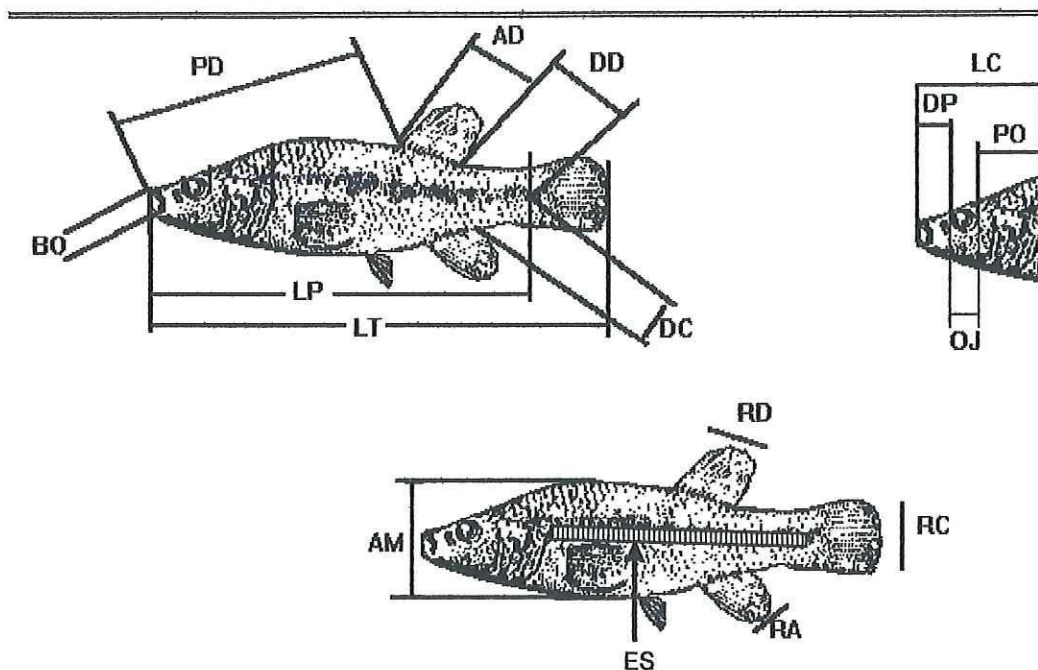


Fig. 9. Caracteres merísticos y morfométricos considerados. Simbología: LT= Longitud total; LP= Longitud patrón; LC= Longitud cefálica; BO= Tamaño de la boca; DP= Distancia preorbital; OJ= Diámetro ocular; PO= Distancia postocular; PD= Distancia predorsal; AD= ancho de la aleta dorsal; DD= Distancia postdorsal; DC= Distancia postanal; AM= Altura máxima; RD= Radios de la aleta dorsal; RC= Radios de la aleta caudal; RA= Radios de la aleta anal; ES= Escamas en serie lateral o longitudinal.

Los datos biométricos fueron analizados estadísticamente con el programa STATISTICA ver. 4.2., mediante el cual se calcularon las medidas de tendencia central (promedio para los caracteres morfométricos estandarizados y mediana para los merísticos) y de dispersión (desviación estándar para los morfométricos estandarizados y cuartiles 25 y 75 para los merísticos), así como el coeficiente de correlación de Pearson entre las medidas.

Los datos fueron estandarizados siguiendo los métodos reportados por Reimchen *et al.* (1985). En los análisis subsecuentes se utilizaron las proporciones morfométricas y

los datos merísticos no transformados. La estandarización se efectuó mediante el uso de proporciones con respecto a las longitudes patrón y cefálica. Las proporciones con respecto a la longitud patrón fueron: longitud total, longitud cefálica, distancia predorsal, ancho de la aleta dorsal, distancia postdorsal, distancia postanal y altura máxima. Las proporciones con la longitud cefálica fueron: tamaño de la boca, distancia preorbital, diámetro ocular y distancia postocular.

La eficiencia de la transformación fue evaluada mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov, Ji-cuadrada para normalidad, correlación lineal, linealidad, homogeneidad de variancias de Barlett y prueba de la caja M para variancia-covariancia (Tabachnik y Fidell, 1989). Con base en estas pruebas fueron seleccionadas las variables que presentaron un mejor ajuste a los supuestos de la prueba estándar por pasos del análisis de funciones discriminantes, el cual se aplicó para identificar los caracteres de mayor importancia en la clasificación de los taxa, así como para determinar la separación de los grupos con base en el cálculo de las distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) y construir un dendrograma que ilustró, con una base fenológica, las relaciones entre las poblaciones. El uso de los datos estandarizados se efectuó con el propósito de eliminar el efecto de redundancia entre las variables y, en consecuencia, se permitiera que la clasificación (discriminación) dependiera sólo de las diferencias entre las poblaciones.

Análisis alozímico

Para el análisis alozímico se utilizó exclusivamente la musculatura axial del pez. Lo anterior fue debido a la incidencia alta (82.2%) de nemátodos (*Contracaecum multipapillatum*), observados en la cavidad corporal e hígado de *F. lima*. Los tejidos se homogeneizaron individualmente en una solución de 0.1 M Tris-HCl pH 8.0, NAD^+ ,

NADP⁺ y PVP (100: 0.1: 0.1: 1; v: w: w: w) (modificada de Lester, 1983), con un homogeneizador eléctrico. Las muestras homogeneizadas fueron centrifugadas a 5,500 x g por 20 min a 4°C. Los sobrenadantes se transfirieron a tubos con tapa y enseguida se almacenaron a -80 °C hasta su procesamiento electroforético.

La electroforesis se efectuó en gel de almidón (Sigma) al 10%, colocando las muestras de las diferentes poblaciones intercaladas. Doce sistemas enzimáticos fueron seleccionados, de los cuales se resolvieron 16 loci (Tabla II). Los métodos electroforéticos empleados fueron los reportados por Grijalva-Chon *et al.* (1996) y Correa-Sandoval y Rosa-Vélez (1996). En el anexo 3 se describen en detalle las soluciones amortiguadoras y los sistemas enzimáticos utilizados.

En los zimogramas, se hizo una discriminación entre loci génicos cuando la variación de una zona de actividad no afectaba a otra. El fenotipo obtenido se interpretó como genotipo, de tal forma que las alozimas se consideraron alelos. La designación de los alelos fue efectuada asignando el número "100" al alelo más común en *F. p. parvipinnis*, y que fue la referencia para medir la movilidad relativa del resto de alelos por locus, con numeración ascendente en el sentido de su movilidad hacia el ánodo. En el caso particular de *PepB*, la nominación de los alelos fue por interpretación de la intensidad de banda (Figura 10).

Los datos obtenidos directamente de los zimogramas se analizaron con el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981) para estimar los siguientes parámetros genéticos: a) polimorfismo: se consideró a un locus polimórfico si la frecuencia del alelo más común era igual o menor al 95%; b) diversidad genética: como heterocigosis esperada con base en la ecuación de Nei (1978); c) el equilibrio de Hardy Weinberg: mediante la prueba de Ji-cuadrada, con las correcciones de Levene para muestras pequeñas y de Yates para continuidad; y d) la distancia genética insesgada de Nei (1978)

entre poblaciones. Con base en las distancias genéticas, se construyó un dendrograma, utilizando el algoritmo UPGMA.

Tabla II. Resumen de los resultados de las condiciones electroforéticas. Amortiguador A (Tris citrato continuo, pH 8 - Selander *et al.*, 1971). Amortiguador B (Aminopropil- morfolina, pH 6.1 - Clayton y Tretiak, 1972). Amortiguador C (Poulik discontinuo, gel borato de sodio pH 8.7/ electrodo tris-citrato pH 8.2 - Abreu-Grobois, 1983). Tinciones: 1 (Shaw y Prasad, 1970), 2 (Schaal y Anderson, 1974), 3 (Abreu-Grobois, 1983) y 4 (Rosa-Vélez, 1986)- E.C., es el número asignado por la Comisión de Enzimas (IUBNC, 1984).

E.C.	Nombre del sistema	Abrevia- tura.	Amorti- guador	Tinción	Loci resueltos
5.3.1.8	Manosa fosfato isomerasa	MPI	C	3	1
1.1.1.49	Glucosa 6- fosfato deshidrogenasa	G6PD	C	2	1
1.1.1.40	Enzima málica	ME	A	2	2
1.1.1.27	Lactato deshidrogenasa	LDH	A	1	1
1.1.1.42	Isocitrato deshidrogenasa	IDH	A	3	1
5.4.2.2	Fosfoglucomutasa	PGM	A	2	1
1.2.1.12	Gliceraldehido 3 fosfato deshidrogenasa	GADP	B	2	1
-----	Proteínas generales	PT	C	4	2
2.6.1.1	Aspartato aminotransferasa	AAT	A	2	2
3.1.1.1	Esterasas	EST	B	1	1
3.4.11.13	Peptidasas	PEP	C	3	1
1.1.1.37	Malato deshidrogenasa	MDH	A	2	2

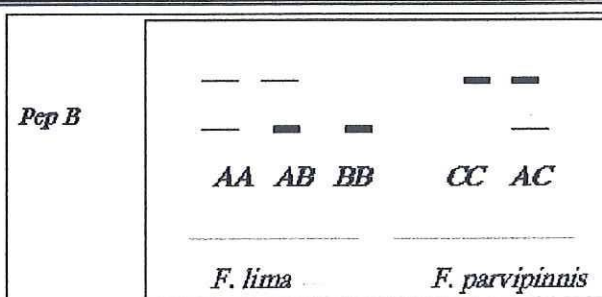


Figura 10. Esquema de la distribución de bandas en Peptidasa B y denominación de los alelos.

Finalmente, para calcular la cantidad de diferenciación entre las poblaciones se analizaron las frecuencias fenotípicas entre las tres poblaciones, utilizando pruebas pareadas del estadígrafo F (Wright, 1965), calculadas mediante el programa GENEPOP ver 1.0. Para la varianza estandarizada (F_{st}), se obtuvieron los valores de significancia por el método de la cadena de Markov (Weir, 1996).

Resultados.

Análisis biométrico

En el análisis individual de cada proporción morfométrica o dato merístico resultaron diferencias en los promedios de las tres poblaciones comparadas, exhibiendo alto traslape en sus intervalos (Figuras 11, 12 y 13).

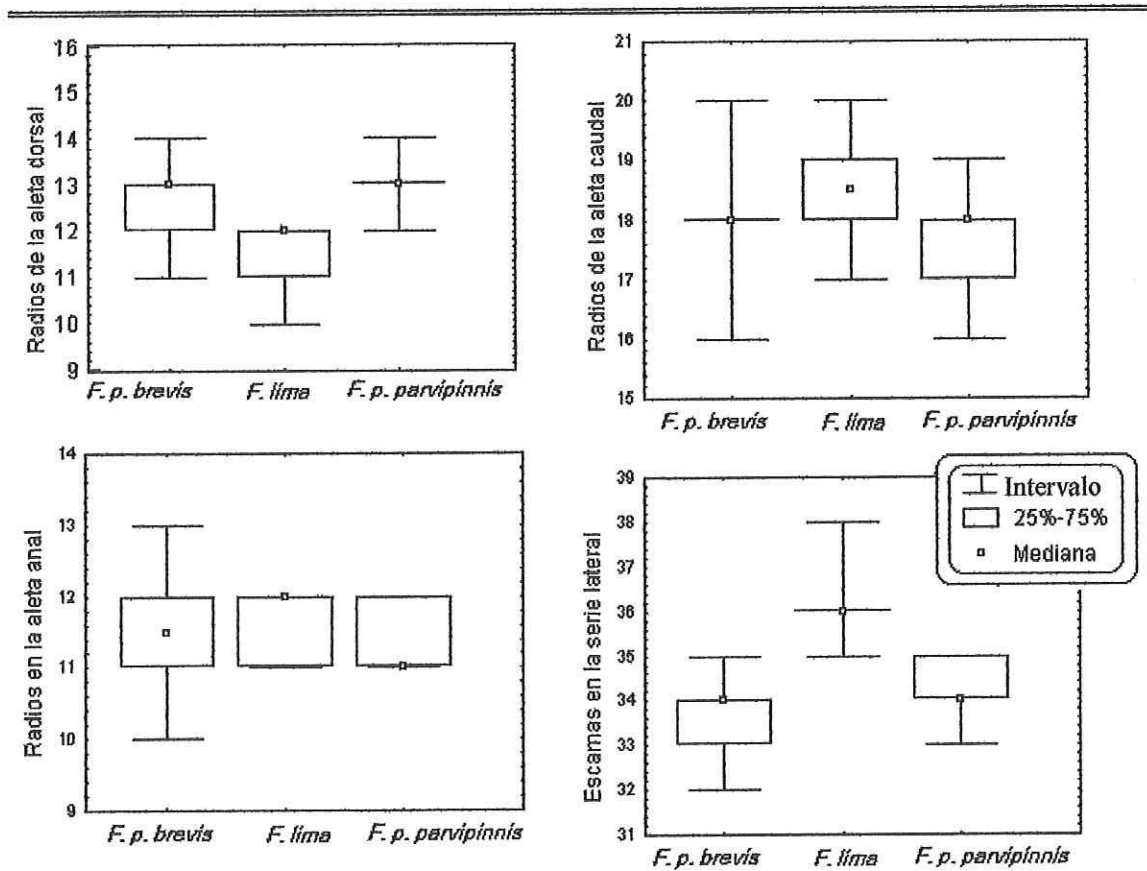


Figura 11. Descriptores estadísticos de los caracteres merísticos de los fundúlidos peninsulares.

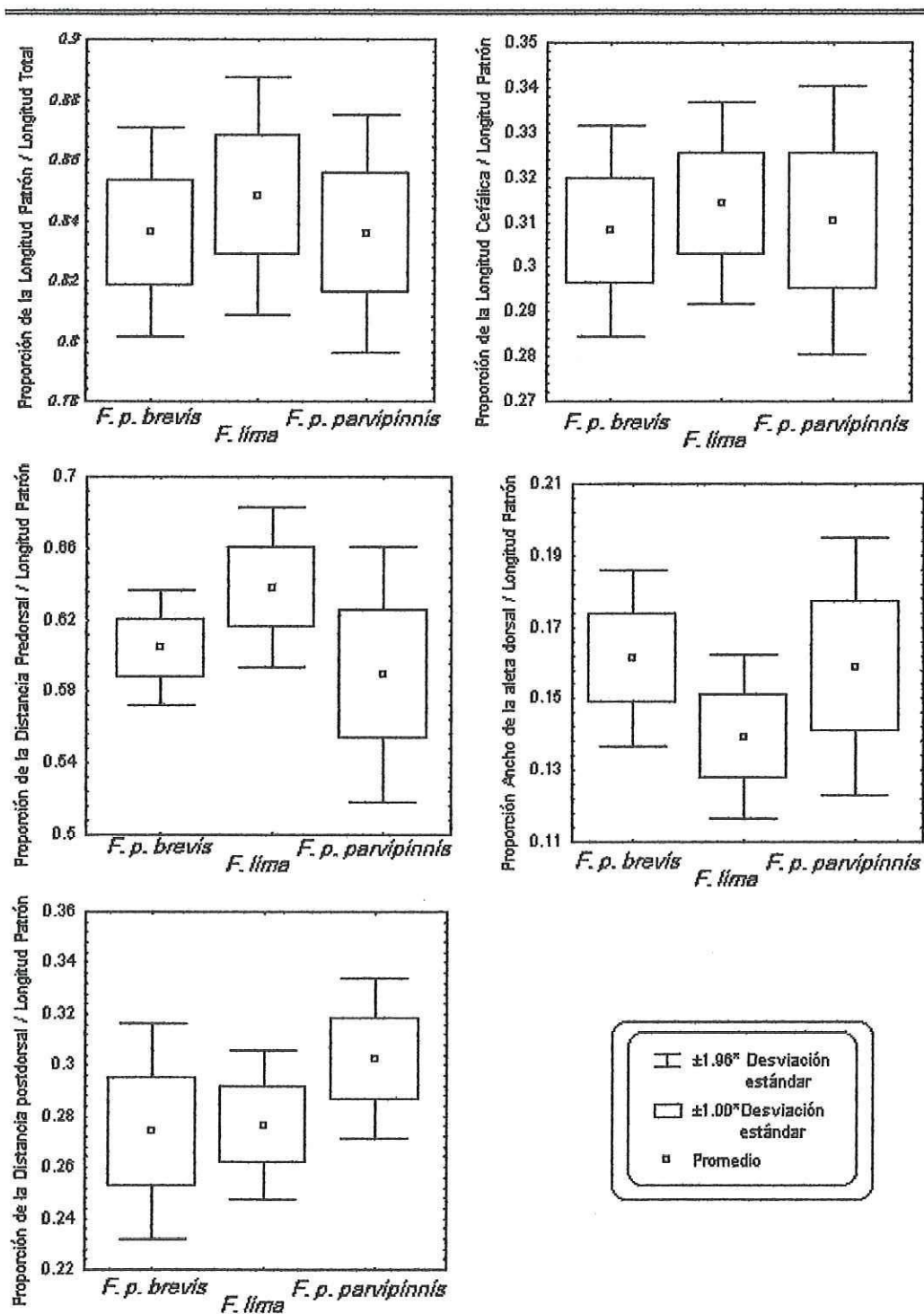


Figura 12. Gráficas de cajas y bigotes de las proporciones con la longitud patrón en los fundúlidos de la península de Baja California.

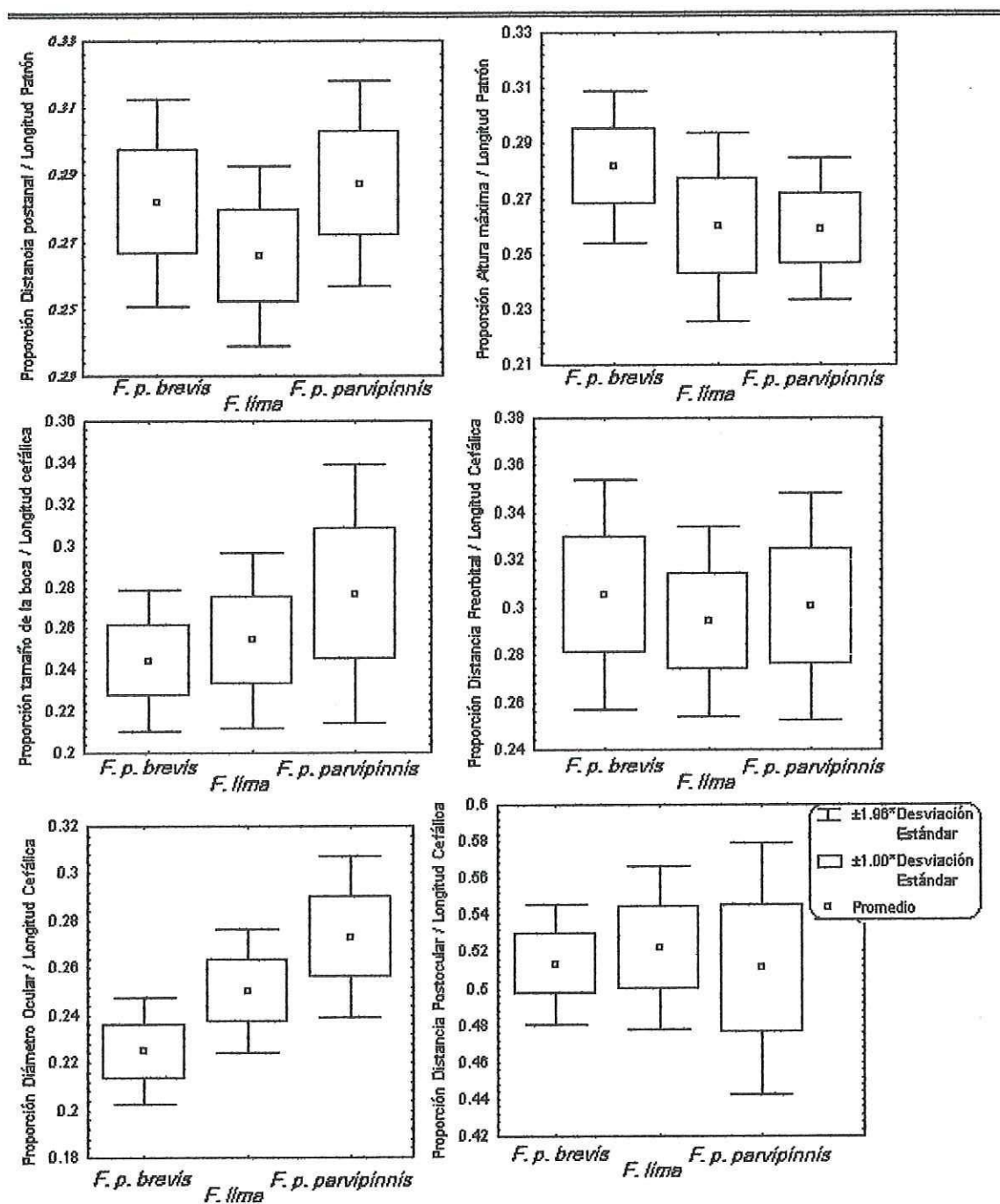


Figura 13. Gráficas de cajas y bigotes de las proporciones con las longitudes patrón y cefálica en los fundúlidos de la península de Baja California.

Los organismos estudiados presentaron una longitud patrón entre 336 mm y 747 mm. En este intervalo de tallas, al contrastar los caracteres morfométricos contra la longitud patrón en cada taxón, se obtuvieron altos valores de correlación (Tabla III), lo que indica crecimiento isométrico. Los valores de correlación entre las proporciones morfométricas y los datos merísticos no transformados resultaron bajas y no significativas, con lo cual se comprobó la eliminación del efecto producido por las diferencias entre las tallas de los organismos.

Tabla III. Correlaciones de la longitud patrón contra sus respectivas medidas morfométricas para los fundúlidos de la península de Baja California.

Simbología: LT= Longitud total; LC= Longitud cefálica; BO= Tamaño de la boca; DP= Distancia preorbital; OJ= Diámetro ocular; PO= Dist. postocular; PD= Dist. predorsal; AD= Ancho de la dorsal; DD= Dist. postdorsal; DC= Dist. postanal; AM= Altura máxima. Todas las correlaciones fueron significativas ($P \leq 0.05$), con $N=50$.

	LT	LC	BO	DP	OJ	PO	PD	AD	DD	DC	AM
<i>F. lima</i>	0.97	0.92	0.69	0.76	0.84	0.86	0.93	0.75	0.85	0.83	0.77
<i>F. p. brevis</i>	0.96	0.89	0.75	0.77	0.76	0.79	0.94	0.72	0.74	0.80	0.82
<i>F. p. parvipinnis</i>	1.00	0.99	0.91	0.94	0.95	0.98	0.96	0.90	0.97	0.97	0.99

El análisis de funciones discriminantes fue aplicado a cinco variables seleccionadas: Longitud patrón/longitud total (LP/LT), longitud cefálica/longitud patrón (LC/LP), longitud caudal/longitud patrón (DC/LP), longitud preocular/longitud cefálica (DP/LC) y el número de escamas en la serie lateral (ES). Dichas variables mostraron normalidad ($P > 0.05$), homogeneidad de variancias ($P > 0.01$) y de variancia-covariancia (prueba de la caja M, $P = 0.073$). Los caracteres seleccionados fueron de importancia para la clasificación de estos grupos ($p < 0.001$). El análisis discriminante produjo una

clasificación adecuada de los organismos en tres grupos, los cuales corresponden a cada población estudiada (Tabla IV).

Tabla IV. Resumen del análisis de función discriminante.

Lambda de Wilks: 0.19913. Valor aproximado de. F (12,286)= 35.491 p<0.0000

	Lambda de Wilks	Parcial de Lambda	Valor F (2,143)	Valor de p	Tolerancia (T)	1- T R-cuadrada
Longitud patrón/ Longitud total	0.209159	0.952065	3.5999	0.029831	0.836012	0.163988
Longitud cefálica/ Longitud patrón	0.210602	0.945544	4.1179	0.018249	0.835505	0.164495
Distancia postanal/ Longitud patrón	0.242920	0.819748	15.7219	0.000001	0.992363	0.007637
Distancia preocular/ Longitud cefálica	0.213652	0.932043	5.2132	0.006527	0.954884	0.045116
Número de escamas en la serie lateral	0.608676	0.327158	147.0488	0.000000	0.949160	0.050840

Las raíces canónicas 1 y 2 explicaron el 55.95% de la varianza acumulada. La raíz 1 separó a las especies y fue determinada principalmente por el número de escamas en la serie lateral ($Y_1 = -0.8456$ SC). En contraste, la raíz 2 fue definida por la proporción de la longitud caudal/longitud patrón ($Y_2 = 0.9079$ LC/LP) (Tabla V).

Tabla V. Matriz de la estructura de factores (variables de correlación - raíces canónicas).

	Raíz 1 = Y_1	Raíz 2 = Y_2
Longitud patrón/Longitud total	-0.156220	-0.277086
Longitud cefálica/Longitud patrón	-0.106924	0.030613
Distancia postanal / Longitud patrón	0.279053	<u>0.907942</u>
Distancia preocular/ Longitud cefálica	0.104417	-0.064306
Escamas en la serie lateral o longitudinal	<u>-0.845562</u>	0.377237

La clasificación de cada organismo, con base a la distancia cuadrada de Malahanobis (D^2), arrojó una correcta identificación del 96% de los individuos entre especies (*F. parvipinnis* vs. *F. lima*) y del 74% entre subespecies (*F. parvipinnis parvipinnis* vs. *F. parvipinnis brevis*) (Tabla VI y VII, Figura 14).

Tabla VI. Matriz de clasificación del análisis discriminante. Las últimas tres columnas corresponden a los datos obtenidos por el modelo de análisis de función discriminante.

Observado		Esperado (numeros estimados con el modelo)			
		Porcentaje	<i>F. p. brevis</i>	<i>F. lima</i>	<i>F. p. parvipinnis</i>
Población	N	Correcto	p=.33333	p=.33333	p=.33333
<i>F. p. brevis</i>	50	74.00	37	0	13
<i>F. lima</i>	50	96.00	0	48	2
<i>F. p. parvipinnis</i>	50	74.00	11	2	37
Total		81.34	48	50	52

Tabla VII. Matriz de las distancias cuadradas de Mahalanobis.

	<i>F. parvipinnis brevis</i>	<i>F. lima</i>
<i>F. lima</i>	19.83823	-----
<i>F. p. parvipinnis</i>	2.71564	9.62145

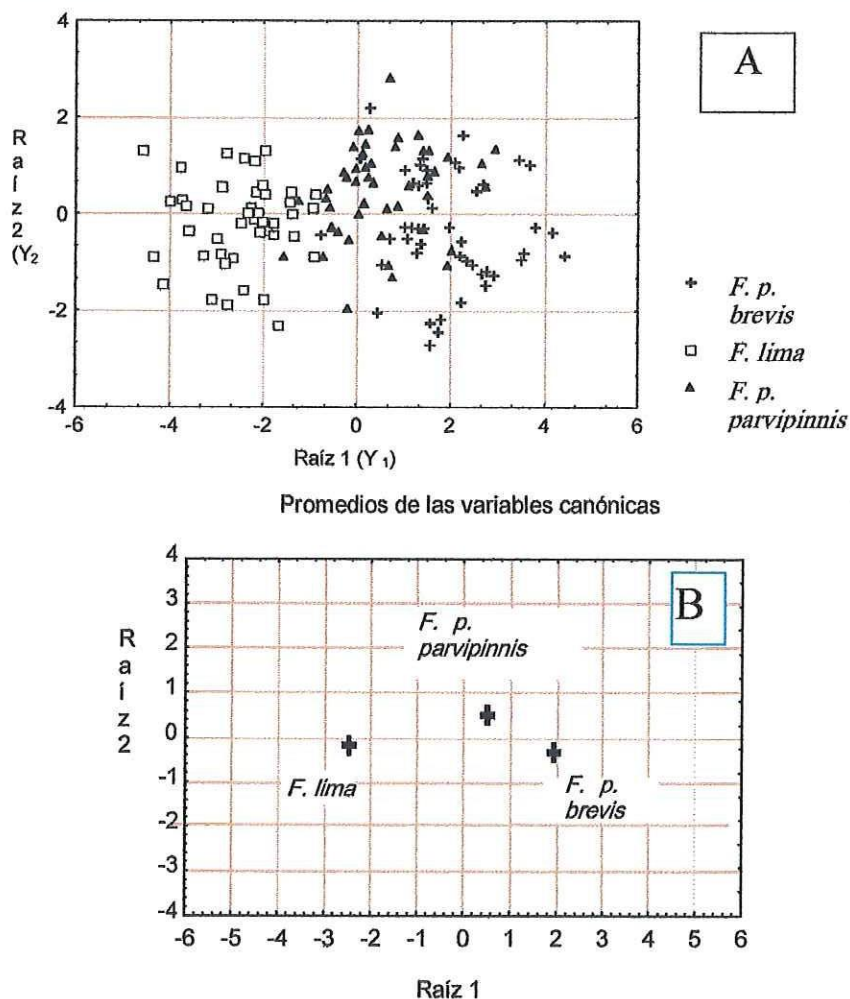


Figura 14. Gráfica del análisis de función discriminante de la raíz 1 contra la raíz 2, de los fundúlidos peninsulares. (A): Con todos los datos, y (B) : Promedio de las variables canónicas.

Análisis alozímico

De los 16 loci analizados, nueve fueron monomórficos en las tres poblaciones estudiadas (*Mpi*, *G6pd*, *Me-1*, *Me-2*, *Ldh*, *Idh*, *Gadp*, *Pt-3* y *Aat-1*); dos fueron monomórficos intrapoblacionalmente, pero polimórficos interpoblacionalmente (*Pt-2* y *Aat-2*); dos fueron monomórficos en *F. lima*, pero polimórficos en los otros fundúlidos (*Pgm* y *Mdh-1*); y tres fueron polimórficos en las poblaciones (*Est-2*, *PepB* y *Mdh-2*).

Los loci *Pgm*, *Pt-2* y *Aat-2* pueden ser considerados como diagnósticos. Los alelos *Pgm*¹⁰⁰, *Pt-2*¹⁰² y *Aat-2*¹⁰² están fijados en *F. lima*, mientras que *Pgm* es polimórfico y *Pt-2*¹⁰⁰ está fijado en ambas subespecies de *F. parvipinnis*. El alelo *Aat-2*¹⁰⁰ sólo se encuentra en *F. parvipinnis parvipinnis* (Tabla VII).

Tabla VIII. Variación alélica de *Fundulus lima*, *F. parvipinnis brevis* y *F. parvipinnis parvipinnis*. Simbología: N, es el número de individuos por locus; Ho, es la frecuencia de heterocigotos observada; D, es la deficiencia o exceso de heterocigotos; *, $p \leq 0.05$; **, $p \leq 0.01$; ***, $p \leq 0.001$.

Locus		<i>F. lima</i>	<i>F. p. brevis</i>	<i>F. p. parvipinnis</i>		
<i>Pgm</i>	N	45	45	45		
	100	1.000	0.989	0.978		
	98	0.000	0.011	0.022		
	Ho	0.000	0.022	0.044		
	D	0.000	0.000	0.011		
<i>Pt-2</i>	N	45	45	45		
	102	1.000	0.000	0.000		
	100	0.000	1.000	1.000		
	Ho	0.000	0.000	0.000		
	D	0.000	0.000	0.000		
<i>Aat-2</i>	N	44	44	45		
	102	1.000	1.000	0.000		
	100	0.000	0.000	1.000		
	Ho	0.000	0.000	0.000		
	D	0.000	0.000	0.000		
<i>Est-2</i>	N	27	42	37		
	104	0.926	0.012	0.014		
	100	0.007	0.798	0.892		
	94	0.000	0.190	0.095		
	Ho	0.148	0.357	0.216		
<i>PepB</i>	N	44	45	44		
	100 (A)	0.489	0.822	0.909		
	105 (B)	0.511	0.044	0.091		
	C	0.000	0.133	0.000		
	Ho	0.341	0.133	0.000		
D	-0.326	*	-0.567	***	-1.000	***
<i>Mdh-1</i>	N	43	45	43		
	107	0.012	0.478	0.488		
	100	0.988	0.522	0.512		
	Ho	0.023	0.956	0.977		
	D	0.000	0.894	***	0.932	***
<i>Mdh-2</i>	N	43	45	43		
	100	0.826	0.711	0.523		
	93	0.174	0.289	0.477		
	Ho	0.116	0.578	0.953		
	D	-0.601	***	0.391	**	0.889

La especie de *F. lima* mostró menores niveles de variabilidad genética en comparación con las subespecies de *F. parvipinnis* (Tabla IX). El mismo patrón fue observado en el porcentaje de loci polimórficos (18.8 en *F. lima* vs 25.0 en *F. parvipinnis* spp.) como en la heterocigosis esperada (0.06 en *F. lima* vs 0.099 en *F. parvipinnis brevis* y 0.089 en *F. parvipinnis parvipinnis*).

Tabla IX. Resumen de la variación genética de los fundúlidos de la península de Baja California. *Criterio $P \leq 0.95$.

	<i>F. lima</i>	<i>F. p. brevis</i>	<i>F. p. parvipinnis</i>
Localidad	Oasis de San Ignacio, B.C.S.	Bahía Magdalena, B.C.S.	Boca del Arroyo La Misión, B.C.
Tamaño de la muestra promedio por locus (d. e.)	41.1 (1.3)	43.1 (0.7)	42.3 (1.0)
Número de alelos por locus (d. e.)	1.3 (0.1)	1.4 (0.2)	1.4 (0.2)
Número de loci polimórficos	3	4	4
Porcentaje de loci polimórficos*	18.8	25.0	25.0
Heterocigosis promedio			
Observada (e. e.)	0.039 (0.023)	0.128 (0.069)	0.137 (0.082)
Esperada (e. e.)	0.060 (0.036)	0.099 (0.045)	0.089 (0.043)

La varianza estandarizada de Wright (F_{st}) aplicada para comparar simultáneamente los tres taxa ($F_{st} = 0.6077$), muestra la existencia de una estructuración (Tabla X). Las pruebas pareadas entre las subespecies (*F. p. parvipinnis* vs. *F. p. brevis*) arrojaron un valor relativamente bajo ($F_{st} = 0.4122$) con respecto al contraste entre especies (*F. lima* vs. *F. p. brevis*, $F_{st} = 0.6168$; y *F. lima* vs. *F. p. parvipinnis* $F_{st} = 0.7311$). Estos resultados fortalecen las evidencias de la mayor relación entre *F. lima* y *F. p. brevis*,

cuyas poblaciones son geográficamente vecinas, que entre *F. lima* y de *F. p. parvipinnis* que es la más distante.

Tabla X. Resumen de los valores de la varianza estandarizada, comparación de las tres poblaciones de fundúlidos peninsulares. Los parámetros de la cadena de Markov incluyeron 1,000 interacciones de 50 lotes.

Locus	<i>Fis</i>	<i>Fit</i>	<i>Fst</i>
<i>Pgm-1</i>	-0.0076	-0.0075	+0.00017
<i>Pt-2</i>	+1.0000	+1.0000	+1.00000
<i>Aat-2</i>	+1.0000	+1.0000	+1.00000
<i>Est-2</i>	-0.0796	+0.6116	+0.64023
<i>Pep-B</i>	+0.5196	+0.6453	+0.26164
<i>Mdh-1</i>	0.9130	-0.3430	+0.29798
<i>Mdh-2</i>	-0.3720	-0.2384	+0.09735
Total			+0.60775

$\chi^2 =$ infinito ; g.l. = 14; P= altamente significativa

La distancia genética de Nei (Tabla XI), reveló una mayor distancia entre *F. lima* y *F. p. parvipinnis* ($D = 0.247$) que entre *F. lima* vs *F. p. brevis* ($D = 0.153$). La distancia entre las subespecies fue relativamente baja ($D = 0.075$). El dendrograma de la figura 15 muestra las relaciones genéticas entre especies y subespecies.

Tabla XI. Matriz de los coeficientes de distancia (bajo la diagonal) y de similitud genética (sobre la diagonal), con base en la fórmula sin sesgo de Nei (1978).

Población	<i>Fundulus lima</i>	<i>F. p. brevis</i>	<i>F. p. parvipinnis</i>
1 <i>Fundulus lima</i>	-----	0.859	0.781
2 <i>F. p. brevis</i>	0.153	-----	0.928
3 <i>F. p. parvipinnis</i>	0.247	0.075	-----

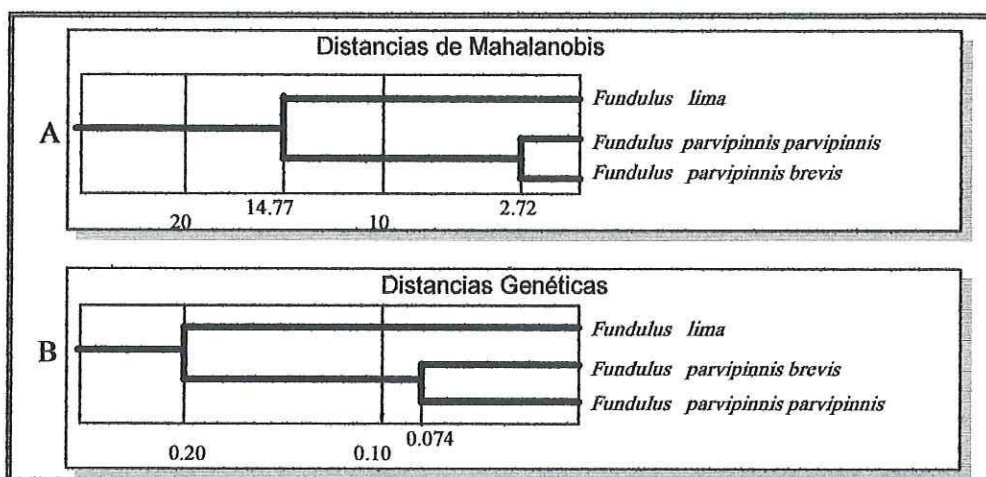


Figura 15. Dendrogramas de las distancias biométricas y genéticas entre los fundúlidos de la península de Baja California . A) Distancia de Malahanobis obtenidas de los datos biométricos y B) distancias genéticas de Nei (1978).

Discusión.

Análisis biométrico

Los caracteres biométricos evaluados en el presente estudio presentaron traslapes en sus intervalos, por lo que al considerar análisis univariados, los caracteres pueden resultar ineficientes para la identificación de las especies y subespecies. En contraste, el análisis multivariado (análisis discriminante), al considerar simultáneamente diversos caracteres y su efecto combinado, brinda una separación más eficiente de los taxa. A partir del análisis de funciones discriminantes resultó un modelo que clasificó adecuadamente a las especies y subespecies de fundúlidos, confiriendo así una evidencia adicional para su separación taxonómica.

Los caracteres biométricos conocidos para separar a los fundúlidos peninsulares, son la proporción del diámetro ocular sobre la longitud cefálica, el número de escamas en la serie longitudinal y el número de radios de las aletas dorsal y anal (cf. Evermann, 1908; Miller, 1943; y Álvarez, 1970). Los resultados obtenidos en el presente trabajo corroboran estadísticamente el valor diagnóstico del número de escamas en la serie longitudinal, e identifica el valor diagnóstico de la proporción de la distancia postanal o caudal sobre la longitud patrón.

El número de escamas en la serie longitudinal destacan como carácter merístico diagnóstico para identificar a las especies de fundúlidos peninsulares. El valor diagnóstico de éstos se sustenta en las diferencias de las medidas de tendencia central y su mayor peso en la discriminación de la raíz 1.

En la discriminación se detectó un bajo porcentaje de organismos erróneamente clasificados (Tabla 6), principalmente entre las subespecies estrechamente agrupadas. La

presencia de individuos atípicos entre las subespecies de *F. parvipinnis* fue reportada previamente por Myers (1930).

Las diferencias en la morfología externa van de sutiles entre las subespecies a relativamente marcadas entre las especies, lo cual es coherente con las distancias de Malahanobis y el esquema de las relaciones entre los fundúlidos peninsulares.

Análisis alozímico

En el análisis de alozimas destacó la presencia de alelos diferentes entre las poblaciones. Dos loci resultaron de gran valor diagnóstico en la identificación de fundúlidos peninsulares, *Aat-2* y *Pt-2*, los cuales a pesar de ser monomórficos intrapoblacionalmente, presentaron diferentes alelos fijados entre las especies y subespecies. Esta condición permite aquí considerarlos como marcadores bioquímicos de valor taxonómico.

En el análisis del patrón de la variación alélica se distinguen otras evidencias sobre la divergencia existente entre las poblaciones de fundúlidos aquí analizados. Los loci *Pgm*, *PepB*, *Mdh-1* y *Mdh-2* tienen diferente patrón entre las poblaciones, motivo por el cual pueden ser también considerados de valor diagnóstico.

La variabilidad genética de los fundúlidos estudiados, expresada como heterocigosis esperada ($H_e = 0.060-0.099$), se encuentra dentro de los intervalos conocidos para otras especies ícticas ($H_e = 0.05-0.17$; Valentine y Ayala, 1978; Ward *et al.*, 1994; Smith, 1996). A partir de datos de diferentes subpoblaciones geográficas de *F. catenatus* (Grady *et al.*, 1990), se estimó un promedio de heterocigosis esperada de 0.093, siendo este valor muy cercano al obtenido en el presente estudio para *F. parvipinnis* sspp.

Con base en la hipótesis anterior de que *F. lima* y *F. parvipinnis* poseen una estrecha relación filogenética (Follett, 1960; Wiley, 1986; Cashner *et al.*, 1992; Bernardi y Powers, 1995), se esperaba encontrar que sus variabilidades genéticas fueran muy similares. Sin embargo, *F. lima* resultó con baja variabilidad genética, lo cual puede ser asociado, al menos, al efecto del fundador (Tamarin, 1996) o al de fragmentación (Gall, 1988), dichos efectos se expresan en poblaciones pequeñas. Esta posible explicación se discutirán más adelante en el marco de la evolución de estos taxa.

La varianza estandarizada (*Fst*) permite comparar la estructura de la población en función de un análisis de la homogeneidad de las frecuencias genéticas dentro y entre muestras (Chakraborty y Leimar, 1987). En el presente trabajo, los resultados muestran una baja homogeneidad entre las poblaciones, con una estructuración independiente (*Fst*= 0.608).

El índice de distancia o el de similitud genética han sido aplicados en estudios de sistemática, para inferir el grado de separación entre poblaciones, subespecies y especies. Considerando la relativa cercanía geográfica entre las poblaciones de *F. lima* y *F. parvipinnis brevis*, se esperaba una menor distancia genética. Esta suposición fue confirmada con nuestros resultados en donde se obtuvo una relativa menor distancia genética entre dichas poblaciones ($D= 0.153$) con respecto a la de *F. lima* y *F. p. parvipinnis* ($D= 0.247$). Estas evidencias fortalecen la hipótesis del origen de *F. lima* a partir de *F. p. brevis*. Adicionalmente, en la combinación de los caracteres diagnósticos derivados de los análisis biométricos y de alozimas, confirman las relaciones entre estas especies y subespecies, como es mostrado en la figura 15, en donde la topología de ambos dendrogramas es muy similar.

En el dendrograma construido a partir de las distancias genéticas (Figura 15) se representan las relaciones genéticas entre los fundúlidos peninsulares y es plausible

interpretarlo como el esquema de las relaciones evolutivas de los taxa estudiados, con fundamento en los estudios filogenéticos realizados previamente (Wiley, 1986; Cashner *et al.*, 1992; Bernardi y Powers, 1995).

Al considerar los resultados de los análisis morfométricos y de los alozímicos, se aportan evidencias adicionales en apoyo al estatus taxonómico de los fundúlidos de la península de Baja California.

Evolución de los fundúlidos peninsulares

A partir de la hipótesis de los centros de origen/dispersión, la biogeografía histórica pretende reconstruir las secuencias de origen y dispersión de los taxa, considerando evidencias de eventos geológicos y patrones de distribución de la biota actual (Myers y Giller, 1988). Desde este enfoque, el centro de origen de los fundúlidos americanos se encuentra en la vertiente Atlántica de los Estados Unidos de América (EE.UU.), donde existe la mayor diferenciación taxonómica del género, con 22 de las 27 especies conocidas (Miller, 1958; Mayden *et al.*, 1992).

Con base en los datos obtenidos en el presente estudio, se plantea como hipótesis que el centro de dispersión de los fundúlidos en las costas del Pacífico, se encuentra en la parte más norteña de su distribución actual. De acuerdo a lo anterior, *F. p. parvipinnis* está relacionado con el linaje más antiguo. La presencia de registros fósiles del género *Fundulus* en California procedentes del Plioceno-Pleistoceno, EE.UU. (Miller, 1955), así como la ubicación en las costas de California del centro geográfico de distribución actual del género en el Pacífico, brindan sustento a dicha hipótesis.

La especie ancestral de los fundúlidos peninsulares probablemente se dispersó hacia el sur, a favor de la corriente de California (Figura 16). Esta corriente se desvía hacia el oeste cerca de Bahía Magdalena, B.C.S. (Briggs, 1974). A través de este ámbito de

dispersión se presenta un gradiente ambiental, abarcando las provincias biogeográficas Californiana (California, EE.UU. y Baja California, México) y la zona de transición entre las provincias Californiana y la Mexicana (en Bahía Magdalena, B.C.S.). En este escenario, el efecto de la gradación ambiental produjo clinas genéticas en las poblaciones a través de diferenciación parapátrica, originó a las dos subespecies de *F. parvipinnis*.

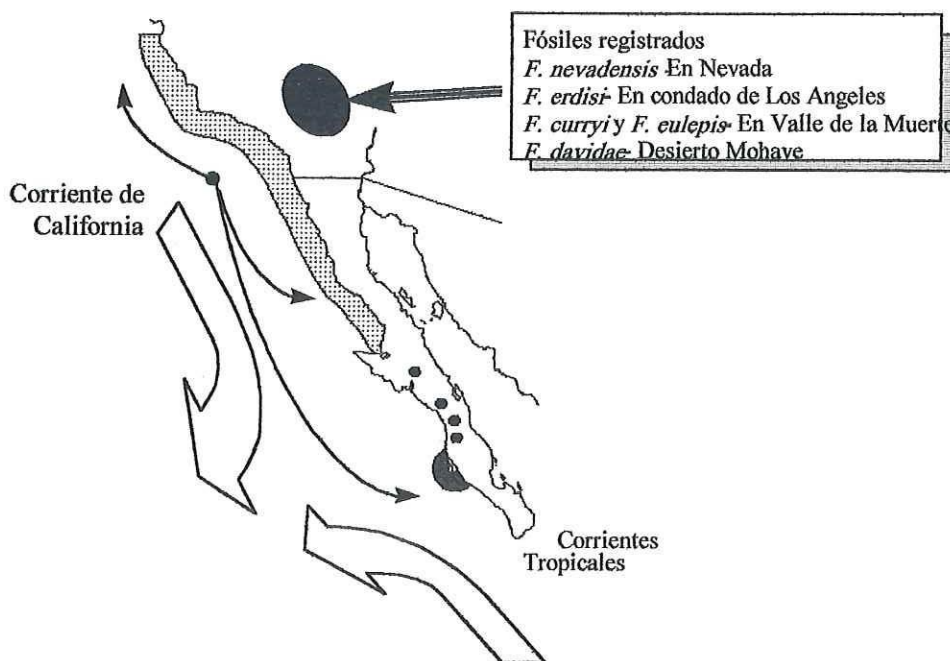


Figura 16. Hipótesis propuesta sobre la dispersión de *F. parvipinnis* en la Península de Baja California.

En el caso de *F. lima* se postula su diferenciación en un tiempo relativamente reciente, a partir de organismos de *F. parvipinnis* que penetraron en las corrientes epicontinentales (Figura 17) formadas durante los períodos de continuas lluvias que distinguieron el Pleistoceno Tardío (Van Devender *et al.*, 1987). Después de ese tiempo,

las condiciones cambiaron gradualmente al clima desértico actual (Van Devender *et al.*, 1987), quedando los peces aislados en los oasis e iniciándose así un proceso de especiación alopátrica. En apoyo a la hipótesis de la posible incursión continental de *F. parvipinnis*, se ha reportado que esta especie de tipo eurihalino tiene la capacidad de penetrar en arroyos costeros (Follett, 1960; Miller, 1939) y de reproducirse en estos biotopos (Miller, 1943; Ruiz-Campos *et al.*, 1998b). Adicionalmente, en los oasis existen comunidades relictas de origen mesófilo relacionadas con las condiciones hídricas que distinguieron al Pleistoceno (Grismer y McGuire, 1993).

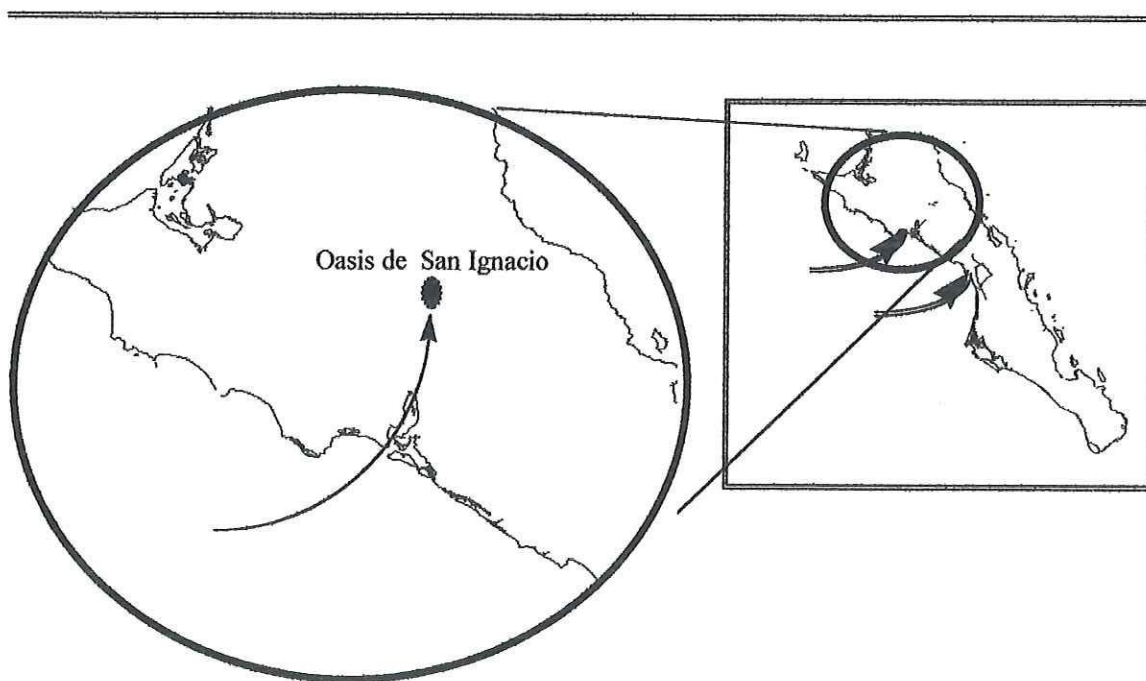


Figura 17. Hipótesis de dispersión fluvial de *F. parvipinnis* hacia los actuales oasis, donde por aislamiento geográfico originó a *F. lima*.

Como consecuencia de la dispersión hacia los arroyos, seguida por el aislamiento de los canales hidrológicos producido por efecto del radical cambio climático de México a

xérico, la población ancestral fue fragmentada y el tamaño de sus demos reducido. Los eventos de fragmentación en la distribución de *F. lima* puede explicar su baja variabilidad genética, la que también se asocia con el tamaño reducido actual de sus poblaciones en las diferentes cuencas hidrológicas (Ruiz-Campos y Contreras-Balderas, 1987; Reynoso-Mendoza, 1994, Ruiz-Campos *et al.*, 1998a).

La hipótesis aquí planteada para explicar el proceso de dispersión de los fundúlidos del Pacífico a partir de los demos más norteños de su ámbito de distribución actual, asume que hubo una dispersión vía interconexión de las cuencas hidrológicas del Atlántico con la cuenca del Río Colorado y las vertientes costeras del Pacífico. Lo anterior es sustentado por el hallazgo de fósiles del Plioceno-Pleistoceno en las regiones del Desierto de Mohave y el Condado de Los Angeles. Sin embargo, son requeridos estudios más específicos que ilustren las posibles conexiones hidrológicas durante el Mioceno-Pleistoceno, entre la vertiente del Atlántico y las cuencas del sur de California.

Con base en estudios de secuencias del gen del citocromo b, Bernardi y Powers (1995) plantearon como hipótesis que la emigración de fundúlidos ancestrales durante el Plioceno entre las costas del Atlántico y del Pacífico fue a través del portal de Panamá. Cabe señalar que durante el Plioceno, la península de Baja California se encontraba aún en proceso de formación. De acuerdo al modelo geodinámico de Dickinson (1977), la formación de la península se inició durante el Cretácico, cuando se encontraba unida al continente. El proceso de separación se presentó durante el Mioceno y la formación del protogolfo de California ocurrió durante la transición Mioceno-Plioceno. Posteriormente, la emersión de la península sobre el nivel del mar aconteció durante el Plioceno, como resultado de la actividad del complejo volcánico San Andrés-Cedros y el surgimiento de la placa neogénica de Santa Rosalia. Como consecuencia de estos eventos, aparecieron formaciones insulares. Finalmente, el proceso geológico concluyó durante el Cuaternario

(Pleistoceno) con la presencia del batolito peninsular y la Sierra La Giganta (Padilla *et al.*, 1991).

Con base en la hipótesis de migración a través del portal de Panamá propuesta por Bernardi y Powers (1995), y considerando la historia geológica de la península, el origen probable de *F. lima* puede ser explicado por el aislamiento de poblaciones de fundúlidos ancestrales que permanecieron en lagunas costeras, las que perdieron gradualmente su comunicación con el mar, resultando un proceso de especiación alopátrica vicariante. Con este esquema se debe suponer que durante el Plioceno, el proceso de dispersión hubo de efectuarse de sur (istmo de Panamá) a norte (Baja California y California). En este escenario es difícil encontrar una explicación plausible a la ausencia de fundúlidos hacia el sur de Bahía Magdalena, característico de otras especies con dispersión a partir de mesoamérica hacia la península durante el Mioceno-Plioceno, en donde la migración se asocia al desprendimiento de la península a partir de la masa continental, por ejemplo en *Gobiesox juniperoserrai*, que presenta especies relacionadas en las vertientes del pacífico mexicano (Espinoza-Pérez y Castro-Aguirre, 1996).

Adicionalmente, no es posible aceptar la ruta de dispersión de sur a norte, ya que la corriente de California tiene un flujo neto en dirección opuesta, en donde característicamente la dispersión de las especies es de norte a sur, es decir a favor de la corriente de California, tal como se presenta en *Oncorhynchus mykiss nelsoni*, así como en otros organismos de afinidad holártica (Nielsen *et al.*, 1997).

Un muestreo más intensivo incluyendo una mayor diversidad de poblaciones de cada taxa será requerido para comprobar los marcadores biométricos y alozímicos, así como la hipótesis del origen de los fundúlidos en las costas del Pacífico. Sin embargo, tomando en cuenta la naturaleza de las muestras analizadas en este estudio, podemos considerar que se encontraron caracteres de utilidad práctica para la identificación de las

especies y subespecies. Por otro lado, se propone una interesante hipótesis para explorar los procesos de dispersión de los fundúlidos peninsulares con base en un esquema de propagación de norte a sur, en oposición a la hipótesis de migración durante el Plioceno a través del portal de Panamá, que implica movimientos en el Pacífico con dirección sur a norte.

Conclusiones

1.- Los caracteres biométricos diagnósticos de mayor importancia para la identificación de los fundúlidos de la Península de Baja California, fueron: escamas de la serie lateral y la proporción de la distancia postanal/ longitud patrón,.

2.- Los alelos diagnósticos para separar esas taxa fueron: *Pt-2¹⁰²* y *Aat-2¹⁰²*.

3.- La menor variabilidad genética se registró en *F. lima*, tanto en loci polimórficos como en la heterocigosis esperada.

4.- Con base en la varianza estandarizada, se demuestra una estructuración entre las poblaciones de fundúlidos estudiados.

5.- En cuanto a la evolución y origen biogeográfico de estas taxa, se plantea como su centro de origen el sur de California (EE.UU.), con dispersión de norte a sur, a partir del Pleistoceno.

6.- El proceso de diferenciación de las especies corresponde al alopátrico vicariante y para las subespecies el parapátrico incompleto.

7.- La menor variabilidad genética de *F. lima*, se asocia principalmente a un proceso de fragmentación y/o reducción de la población, con su concomitante deriva génica.

Literatura citada

- ABREU-GROBOIS, F. A. 1983. Population genetics of *Artemia*. Ph. D. Thesis College Swansea, Wales, Great Britain. 438 pp.
- ALANIZ-GARCÍA, J. 1995. Interacción trófica entre dos especies ícticas, *Fundulus lima* Vaillant y *Xiphophorus helleri* Heckel, en el oasis de San Ignacio, Baja California Sur, México, Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California. México. 81 pp.
- ÁLVAREZ V., J. 1970. Peces Mexicanos (claves). Secretaría de Industria y Comercio, Instituto Nacional de Pesca, México. 166 pp.
- AVISE, J. C. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Systematic Zoology*. 23: 465-481.
- AVISE, J. C. 1994. Molecular markers natural history and evolution. Chapman-Hall. New York. 511 pp.
- AYALA, F. J. 1975. Genetic differentiation during the speciation process. *In*: Hecht, M. K. y W. C. Steere (eds.). *Evolutionary Biology*, (Volumen 8). Plenum Press, New York; 1-78.
- BERNARDI, G. y D. A. Powers. 1995. Phylogenetic relationships among nine species from the genus *Fundulus* (Cyprinodontiformes, Fundulidae) inferred from sequences of the cytochrome *b* gene. *Copeia* 1995: 469-473.
- BRECEDA, A.; A. Castellanos; L. Arriaga y A. Ortega. 1991. Conservación y áreas protegidas. *In*: Ortega, A. y L. Arriaga (eds.). *La Reserva de la Biosfera El Vizcaíno en la Península de Baja California*. Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, A. C, La Paz B.C.S. Publicación 4; 21-32.

- BRIGGS, J. C. 1974. *Marine Zoogeography*. McGraw-Hill Co., San Francisco. 475 pp.
- BRILL, J. S. 1982. Observations on the unique reproductive behavior of *Fundulus lima* Vaillant, a killifish from Baja, California. *Aquarium Enero*: 10-15, 74-76, 78-79, 82, 84-87, 90 pp.
- CABRERA-SANTILLÁN, S. 1997. Aspectos ecológicos de la ictiofauna de la bocana del Arroyo La Misión, Baja California, México. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California. México. 59 pp.
- CAMARENA-ROSALES, F., J. de la Rosa-Vélez, F. Correa y G. Ruiz-Campos. 1999. Estudio de la variabilidad genética de *Fundulus lima* y sus relaciones filogeográficas con otros fundúlidos (Pisces: Fundulidae) de la península de Baja California, México. Informe técnico final proyecto L013, Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO). 110 pp.
- CASHNER, R. C., J. S. Rogers y J. M. Grady. 1992. Phylogenetic studies of the genus *Fundulus*. *In*: Mayden, R. L. (ed.). *Systematics, Historical Ecology, and North America Freshwater Fishes*. Stanford University Press, Stanford; 421-437.
- CHAKRABORTY, R. y O. Leimar. 1987. Genetic variation within a subdivided population. *In*: Ryman, N. y F. Utter. (eds.). *Population, Genetics and Fishery Management*. University of Washington Press. Seattle; 89-120.
- CLAYTON, J. W. y D. N. Tretiak. 1972. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 29 (8):1169-1172.
- CORREA-SANDOVAL, F. y J. de la Rosa-Velez. 1996. Allozymatic variation in three populations of *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) from Mexico. *In*: Gajardo, G.

- y P. Coutteau. Proceedings of a Workshop on Fish and Mollusc Larviculture. Creces, Chile; 165-171.
- DE LA CRUZ-AGÜERO, J., M. Arellano-Martinez y V. M Cota-Gómez. 1996. Systematic list of the marine fishes from Ojo de Liebre and Guerrero Negro lagoons, BCS and BC, Mexico. *Ciencias Marinas*. 22: 111-128.
- DICKINSON, W. R. 1977. Paleozoic plate tectonics and evolutions of the cordilleran continental margin. *In*: Stewart, J.H., Stevens C. H. y A. E. Fritsche (eds.). Paleozoic Paleogeography of the Western United States. Pacific Section, Society of Economic Paleontologists and Mineralogist. Pacific Coast Paleogeography Symposium; 137-156.
- DIMICHELE, L., D. A. Powers y J. A. DiMichele. 1986. Developmental and physiological consequences of genetic variation at enzyme synthesizing loci in *Fundulus heteroclitus*. *American Zoologists*. 26: 201-208,
- ESPINOSA-PÉREZ, H. y J. L. Castro-Aguirre 1996. A new freshwater clingfish (Pisces: Gobiesocidae) from Baja California Sur, México. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*. 95 (6): 120-126.
- EVERMANN, B. W. 1908. Descriptions of a new species of trout (*Salmo nelsoni*) and a new cyprinodont (*Fundulus meeki*) with notes on other fishes from lower California. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 21:19-30.
- FERRUSQUÍA-VILAFRANCA, A. 1993. Geology of México: A synopsis. *In*: Ramamoorthy, T. P., A. Bye y A. Lot (eds.). *Biological Diversity of México, origin and distribution*. Oxford Press; 1-31.

- FOLLETT, W. I. 1960. The fresh water fishes: their origins and affinities. *Systematic Zoology*. 9: 212-232.
- FRITZ, E. S. 1975. The life history of the California Killifish *Fundulus parvipinnis* Girard, in Anaheim Bay, California. *California Fish and Game, Fish Bulletin*. 165: 91-106.
- GALL, G. A. 1988. Inbreeding. *In*: Ryman, N. y F. Utter (eds.). *Population, Genetics and Fisheries Management*. University of Washington press. Seattle; 47-87.
- GRADY, J. M., R. C. Cashner y J. S. Rogers 1990. Evolutionary and biogeographic relationships of *Fundulus catenatus* (Fundulidae). *Copeia* 1990:315-323.
- GRANT, W. S., G. B. Milner, P. Krasnowski y F. M. Utter 1980. Use of biochemical genetic variants for identification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) stocks in Cook Inlet, Alaska. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 37: 1236-1247.
- GRIJALVA-CHON; J. M., J. de la Rosa-Vélez y O. Sosa-Nishizaki. 1996. Allozyme variability in two samples of swordfish, *Xiphias gladius* L., in the North Pacific Ocean. *U.S. Fishery Bulletin*. 94(3): 589-594.
- GRISMER, L. L. y J. A. McGuire. 1993. The oases of central Baja California, Mexico. part I. A preliminary account of the relict mesophilic herpetofauna and status of the oases. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*. 92 (1):2-24.
- HUBBS, C. L. y K. F. Lagler 1964. *Fishes of the Great Lakes Region*. The Cranbook, Bloomfield Hills, Michigan. 186 pp.
- IUBNC (International Union of Biochemistry, Nomenclature Committee). 1984. *Enzyme nomenclature*. Academic Press, Orlando, Florida. 646 pp.

- JORDAN, D. S. y B. W. Evermann. 1896. The fishes of North and Middle America. Bulletin of United States Natural Museum. 47 (1): 1-954.
- LESTER, L. J. 1983. Developing a selective breeding program for penaeid shrimp mariculture. Aquaculture 33: 41-50.
- MAYDEN R. L., B. M. Burr, L. M. Page y R. R. Miller 1992. The native freshwater fishes of North America. *In*: Mayden, R. L. (ed.). Systematics, Historical Ecology, and North America Freshwater Fishes. Stanford University Press, Stanford; 827-863.
- MILLER, R. R. 1939. Occurrence of the cyprinodont fish *Fundulus parvipinnis* in fresh water in San Juan Creek, southern California. Copeia 1939: 168.
- MILLER, R. R. 1943. Further data on fresh water populations of the Pacific Killifish *Fundulus parvipinnis*. Copeia 1943: 51-52.
- MILLER, R. R. 1955. An annotated list of the american cyprinodontid fishes of the genus *Fundulus*, with the description of *Fundulus persimilis* from Yucatan. Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan 568: 1-26.
- MILLER, R. R. 1958. Origins and affinities of the freshwater fish fauna of western North America, *In* Hubbs, C. L. (ed.). Zoogeography. American Association for the Advancement of Sciences. 51: 187-222.
- MILLER; R. R. y C. L. Hubbs. 1954. An erroneous record of the California Killifish, *Fundulus parvipinnis*, from Cabo San Lucas, Baja California. Copeia 1954: 234-235.
- MILLER R. R. y R. N. Lea 1972. Guide to the coastal marine fishes of California. California Fish and Game, Fishery Bulletin 157: 1-235

- MITTON, J. B. 1993. Enzyme heterozygosity, metabolism, and developmental stability. *Genetica*. 89: 47-65.
- MOYLE, P. B. 1976. *Inland Fishes of California*. University of California Press, Berkeley. 405 pp.
- MYERS, A. A. y P. S. Giller 1988. *Analytical Biogeography: An Integrated Approach to the Study of Animal and Plant Distribution*. Chapman-Hall, New York. 578 pp.
- MYERS, G. S. 1927. On the identity of the Killifish *Fundulus meeki* Evermann with *Fundulus lima* Vaillant. *Copeia* 1927: 178.
- MYERS, G. S. 1930. The killifish of San Ignacio and stickleback of San Ramon, Lower California. *Proceedings of the California Academy of Sciences*. 4 (19): 95-104.
- MYERS, G. S. 1951. *Freshwater fishes and east Indian Zoogeography*. Stanford Ichthyological Bulletin. 4(1): 11 -21.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 553-590.
- NIELSEN, J. L., C. Carpanzano, M. C. Fountain, C. A. Gan. 1997. Mitochondrial DNA and nuclear microsatellite diversity in hatchery and wild *Oncorhynchus mykiss* from freshwater habitats in southern California. *Transactions of the American Fisheries Society*. 126: 397-417.
- OSBURN, R. C. y J. T. Nichols 1916. Shore fishes collected by the Albatross expedition in Lower California with descriptions of new species. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 35: 139-181.
- PADILLA, G., S. Pedrin y E. Troyo D. 1991. Geología. *In: Ortega, A. y L. Arriaga, (eds.)*. *La Reserva de la Biosfera el Vizcaíno en la Península de Baja California*.

- México: Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, La Paz B.C.S; 72-93.
- PARENTI, L. R. 1981. A Phylogenetic and biogeographic analysis of cyprinodontiform fishes (Teleostei: Atherinomorpha). *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 168: 341-557,
- PARK, K. P. y P. Moran 1994. Developments in molecular genetic, techniques in fisheries. *Reviews in Fisheries Biology and Fisheries*. 4(3): 272-299.
- POWERS, D. A., T. Lauerman, D. Crawford, M. Smith, I. Gonzalez V. y L. DiMichele. 1991. The evolutionary significance of genetic variation at enzyme synthesizing loci in the teleost *Fundulus heteroclitus*. *Journal of Fish Biology*. 39 (supplement A): 169-184.
- REIMCHEN, T. E., E. M. Stinson y J. S. Nelson. 1985. Multivariate differentiation of parapatric and allopatric populations of three spine stickleback in the Sagan River watershed, Queen Charlotte Islands. *Canadian Journal of Zoology*. 63: 2944- 2951.
- REYNOSO-MENDOZA, F. 1994. A new population of *Fundulus lima* Vaillant 1894 (Cyprinodontidae) in Baja California península, México. Twenty Sixth Annual Symposium of the Desert Fishes Council. Death Valley California.
- ROSA-VÉLEZ, J. de la 1986. Variabilidad genética poblacional en ostiones de la especie *Crassostrea virginica* del Golfo de México. Tesis Doctoral, Centro de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 124 pp.
- RUIZ-CAMPOS, G. y S. Contreras-Balderas. 1987. Ecological and zoogeographical check list of the continental fishes of the Baja California Península, Mexico. *Proceedings of the Desert Fishes Council*. 17: 105-117.

- RUIZ-CAMPOS, G. y E. P. Pister 1995. Distribution, habitat, and current status of the San Pedro Mártir rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (Evermann). Bulletin of the Southern California Academy of Sciences. 94: 131-148.
- RUIZ-CAMPOS, G. y J. Alaniz-García G. 1995. Limnological characterization of the San Ignacio Oasis, Baja California Sur, Mexico, as a habitat of the endemic killifish, *Fundulus lima* (Vaillant). Proceedings of Desert Fishes Council 25.
- RUIZ-CAMPOS, G.; J. L. Castro A.; A. F. González A. y S. Sánchez G. 1998a. Estatus de conservación de *Fundulus lima* Vaillant 1894 (Pisces: Fundulidae) de la Península de Baja California, México. Memorias del VI Congreso Nacional de Ictiología. Tuxpam, Ver. México.
- RUIZ-CAMPOS, G.; S. Contreras-Balderas; M. L. Lozano-Vilano; S. González-Guzmán y J. Alaníz-García 1998b. Estatus ecológico distribucional de los peces continentales del noroeste de Baja California, México: Distrito San Dieguense. Informe Técnico Proyecto 431100-5-1993PN, CONACYT. 150 pp.
- SCHAAL, B. A. y W. W. Anderson 1974. An outline of techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from the american oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Technical Report Series. Georgia Marine Science Center, University System of Georgia. 74 (3): 1-18.
- SEDESOL (Secretaría de Desarrollo Social). 1994. Norma oficial mexicana NOM-059-ECOL-1994, que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas, en peligro de extinción, amenazadas raras y sujetas a protección especial, y que establece especificaciones para su protección. Diario Oficial 16 de Mayo. 488 (10)(Primera sección): 42-75.

- SELANDER, R. K., M. H. Smith, S. Y. Yang, W. E. Johnson y J. B. Gentry. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. variation in the old-field mouse. *In*: Wheler, M. (ed.). *Studies in Genetics*; 49-90.
- SHAW, C. R. y R. Prasad 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. a compilation of recipes. *Biochemical Genetics*. 4: 297-320.
- SMITH, P. J. 1996. La Diversidad Genética de los Recursos Pesqueros Marinos: Posibles Repercusiones de la Pesca. FAO Documento Técnico de Pesca 334. Roma, Italia. 59 pp.
- SQUIRES, R. L. y R. A. Demetron. 1992. Paleontology of the Eocene Bateque formation, Baja California Sur, Mexico. Natural History Museum of Los Angeles, *Contributions in the Science*. 434:1-55.
- SWOFFORD, D. L. y R. B. Selander. 1981. Biosys-1: A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Journal of Heredity*. 72: 281-283.
- TABACHNICK, B. J. y L. S. Fidell. 1989. *Using Multivariate Statistics*. Harper Collins. England. 746 pp.
- TAMARIN, R. H. 1996. *Principios de Genética*. Reverte. Barcelona. 704 pp.
- VAILLANT, L. 1894. Sur une collection de poissons recueillie en Base-Californie et dans de Golfe par M. Leon Diguët. *Bulletin du la Societé Philomanque de Paris*. Series 3 (6):69-75.
- VALENTINE, J. W. y F. J. Ayala. 1978. Adaptative strategies in the sea. *In*: Battaglia, B. y J. A. Beardmore (eds.). *Marine Organisms, Genetics, Ecology and Evolution*. Plenum Press, New York. 323-345.

- VAN DEVENDER, T. R.; R. S. Thompson y J. L. Betancourt. 1987. Vegetation history of the deserts of southwestern North America; the nature and timing of the Late Wisconsin-Holocene transition. *In*: Ruddiman, W. F. y H. E.Jr. Wright (eds.). North America and Adjacent Oceans During the Last Deglaciatiion. The Geological Society, Boulder, Colorado. 323-352.
- WARD, R. D., N. G. Elliot, P. M. Grewe y A. J. Smolensky. 1994. Allozyme and mitochondrial DNA variation in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from the Pacific Ocean. *Marine Biology*. 118: 531-539.
- WEIR, B.S. 1996. Genetic Data Analysis II. Methods for Discrete Population Genetic Data. Sinaeur, Sunderland, Massachusets. 377 pp..
- WILEY, E. O. 1986. A study of the evolutionary relationships of *Fundulus* Topminnows (Teleostei: Fundulidae). *American Zoologist*. 26: 121-130,
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution* 19: 395-420.

ANEXO I. Caracteres diagnósticos de los fundúlidos

Diagnosis del género *Fundulus*

Los organismos del género *Fundulus* se caracterizan por presentar el cuerpo elongado, poco elevado y comprimido posteriormente. Preopérculo, preorbital y mandíbula con poros mucosos. Aleta dorsal y anal similares en tamaño y forma. Aletas pélvicas bien desarrolladas (Jordan y Evermann, 1896) y en posición abdominal, su origen por detrás de las pectorales. Una sola aleta dorsal. Sin poros en la línea lateral (Alvarez, 1970). Boca de tamaño moderado. Mandíbula inferior fuerte y usualmente se proyecta más allá del borde superior. La mandíbula con 2 o más series de dientes puntiagudos, usualmente formando una banda estrecha. Huesos de la mandíbula firmemente unidos. Huesos faríngeos no elongados. Opérculo no restringido en la parte superior. Primer faringeal superior sin dientes, segundo con dientes, tercero y cuarto co- osificado, con dientes. Puede haber diferencias entre los sexos en color, tamaño y desarrollo de las aletas (Jordan y Evermann, 1896; Moyle, 1976).

Diagnosis de *Fundulus parvipinnis*

La aleta dorsal se inserta antes de la inserción del primer radio anal. Seis radios branquiostegos. De 31 a 38 escamas en la serie lateral y de 10 a 12 radios en la anal (Jordan y Evermann, 1896). Aleta dorsal con 11 a 15 radios, y la anal con 11 a 16 (Jordan y Evermann, 1896; Miller y Lea, 1972). Diámetro ocular, cuando menos, 4.2 veces en la longitud cefálica. Con 31 a 37 escamas en la línea lateral y de 34 a 37 vértebras. Aleta dorsal y anal redondeadas (Miller y Lea, 1972). Coloración dorsal y

lateral verdosa. El macho cuenta con 20 barras cortas negruzcas cruzando el cuerpo. Las aletas son más grandes en el macho.

Esta especie (Figura Ia) es fuertemente eurihalina y puede vivir todo su ciclo de vida en ese medio o en agua dulce (Moyle, 1976; McGinnis, 1984). En los machos reproductivos que habitan los cuerpos de agua dulce, presentan la base de su pedúnculo caudal escamas con una espina central (ctena) (Miller, 1943) y acrescencias sobre sus radios dorsales y anales (Ruiz-Campos *et al.*, 1998).

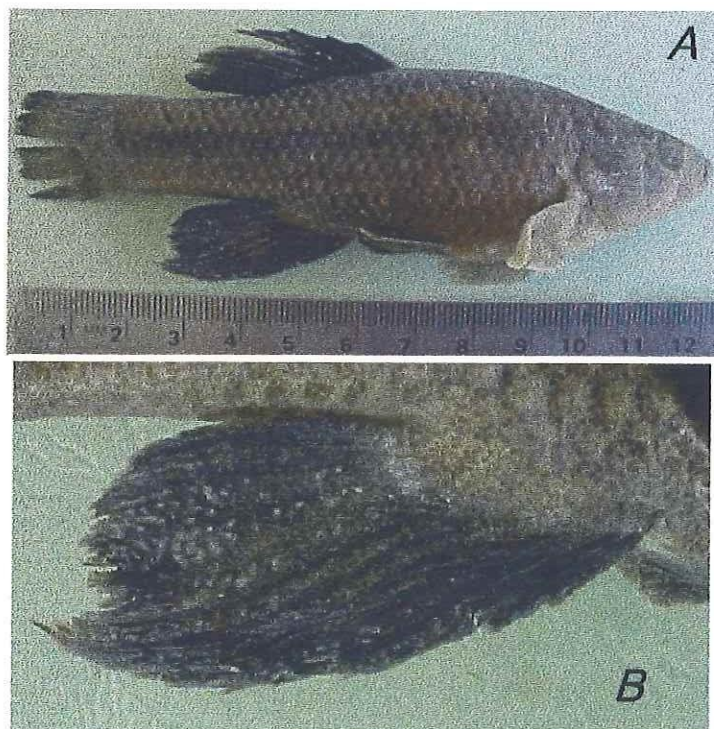


Figura I. Fotografía de ejemplar macho activo de *Fundulus parvipinnis parvipinnis*, de la colección de referencia de Ictiología de la Facultad de Ciencias, U.A.B.C. A) Vista lateral y B) Detalle de la aleta caudal.

Las subespecies se diferencian por el número de escamas en la línea lateral, el número de vértebras y sus ámbitos de distribución geográfica. *F. p. parvipinnis* posee de 33 a 37 escamas en la línea lateral y de 35 a 37 vértebras, mientras que *F. p. brevis* tiene de 31 a 34 escamas en la línea lateral y 32 a 34 vértebras (Miller y Hubbs, 1954). La separación de las subespecies fue verificada posteriormente por Myers (1930), aunque reportó que algunos individuos de *F. p. brevis* no pudieron ser distinguidos de *F. p. parvipinnis*.

Diagnosis de *Fundulus lima*

La longitud y el ancho de la cabeza cabe 3.1 y 3.4 en la longitud patrón. Diámetro ocular cabe 4.5 veces en la longitud cefálica. El rostro y el espacio interorbital cabe 4 y 2.7 veces en la longitud cefálica, respectivamente. La aleta dorsal presenta 12 radios y la anal 12 radios. Con 34 escamas en la línea lateral. El cuerpo es corto y ancho (Figura II); la cabeza es grande y plana, con el interorbital ancho; los ojos son pequeños; hocico grande y puntiagudo; los dientes se presentan en bandas estrechas en cada mandíbula, la serie exterior mayor, con puntas firmes; el pedúnculo caudal cabe 1.4 veces en la cabeza; las escamas son bastantes grandes. Las aletas son pequeñas, la anal se origina bajo la mitad de la dorsal. En los machos las escamas son sumamente rugosas, particularmente a lo largo del cuerpo y en el pedúnculo caudal (Evermann, 1908).

Durante la época reproductiva, los machos presentan un extraordinario desarrollo de los ctena en las escamas laterales del pedúnculo caudal y las escamas del cuerpo son libres, con una a cuatro espinas pequeñas (Myers, 1930).

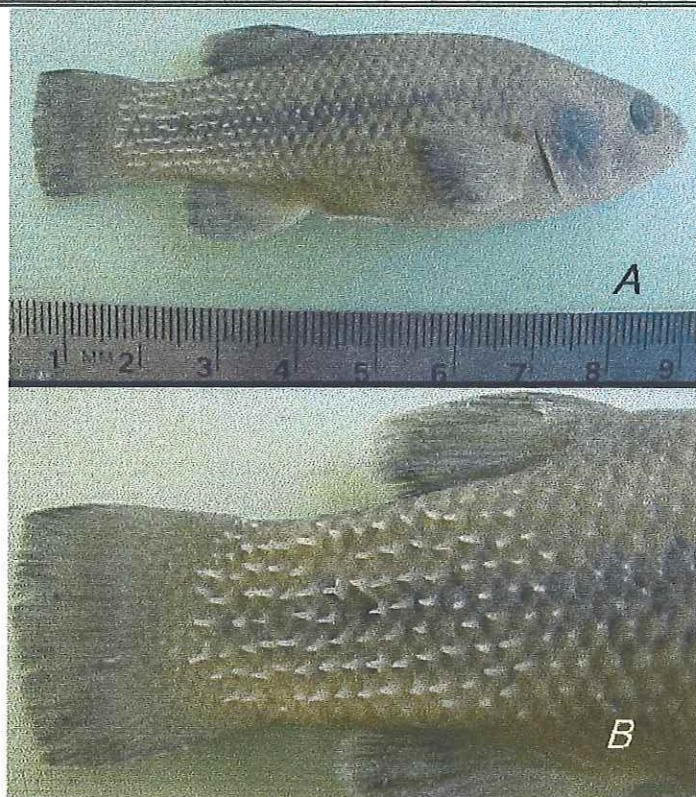


Figura II. Fotografía de ejemplar macho activo de *Fundulus lima*, de la colección de Ictiología de la Facultad de Ciencias, U.A.B.C. A) Vista lateral y B) Detalle del pedúnculo caudal.

Literatura citada.

- ÁLVAREZ V., J. 1970. Peces Mexicanos (claves). Secretaría de Industria y Comercio, Instituto Nacional de Pesca, México. 166 pp.
- EVERMANN, B. W. 1908. Descriptions of a new species of trout (*Salmo nelsoni*) and a new cyprinodont (*Fundulus meeki*) with notes on other fishes from lower California. Proceedings of the Biological Society of Washington. 21:19-30.
- JORDAN, D. S. y B. W. Evermann. 1896. The fishes of North and Middle America. Bulletin of United States Natural. Museum. 47 (1): 1-954.
- MCGINNIS, S. M. 1984. Freshwater fishes of California. University of California Press, Berkeley. California Natural History Guides 49. 316 pp.
- MILLER, R. R. 1943. Further data on fresh water populations of the Pacific Killifish *Fundulus parvipinnis*. Copeia 1943: 51-52.
- MILLER, R. R. y C. L. Hubbs. 1954. An erroneous record of the California killifish, *Fundulus parvipinnis*, from Cabo San Lucas, Baja California. Copeia 234-235.
- MILLER, R. R. y R. N. Lea 1972. Guide to the coastal marine fishes of California. California Fish and Game, Fish Bulletin 157: 1-235.
- MOYLE, P. B. 1976. Inland Fishes of California. University of California Press, Berkeley.
- MYERS, G. S. 1930. The Killifish of San Ignacio and stickleback of San Ramon, Lower California. Proceedings of the California Academy of Sciences. 4 (19): 95-104.
- RUIZ-CAMPOS, G.; S. Contreras-Balderas; M. L. Lozano-Vilano; S. González-Guzmán y J. Alaníz-García 1998. Estatus ecológico distribucional de los peces continentales del noroeste de Baja California, México: Distrito San Dieguense. Informe Técnico Proyecto 431100-5-1993PN, CONACYT. 150 pp.

ANEXO II. Caracteres biométricos

Criterios para la medición de los caracteres merísticos y morfométricos.

Las medidas somáticas y conteos fueron basados en aquellos de Hubbs y Lagler (1964), que se definen a continuación:

Longitud total. Máxima distancia entre la parte más anterior del hocico y la parte más posterior de la aleta caudal, medido sobre el organismo en una superficie plana.

Longitud patrón. Distancia de la parte más anterior del hocico hasta la base del abanico hipural, el cual se reconoce como un doblez al flexionar la aleta caudal.

Longitud cefálica. Distancia entre la parte más anterior del hocico y el margen opercular óseo en su porción media.

Longitud de la boca. Longitud del premaxilar en posición de reposo.

Longitud preorbital. Distancia desde la parte más anterior del hocico hasta el margen anterior del ojo.

Diámetro ocular. Distancia horizontal entre el margen visible anterior y posterior del ojo.

Longitud postocular. Distancia desde el margen posterior del ojo hasta el margen óseo de la porción media opercular.

Longitud predorsal. Distancia desde la parte más anterior del hocico hasta el origen del primer radio de la aleta dorsal.

Ancho de la dorsal. Distancia de la base de la aleta dorsal.

Longitud postdorsal. Distancia desde la terminación de la aleta dorsal (base del último radio) hasta la base del abanico hipural.

Longitud postanal (longitud del pedúnculo caudal). Distancia desde la terminación de la aleta anal (último radio) hasta la base del abanico hipural.

Altura máxima. Altura máxima del cuerpo. Distancia máxima entre los perfiles dorsal y ventral del cuerpo, sin incluir aletas.

Radios dorsal. Número de radios [desarrollados] presentes en la aleta dorsal, caracterizados por presentar al menos una bifurcación.

Radios de la anal. Número de radios [desarrollados] presentes en la aleta anal, caracterizados por presentar al menos una bifurcación.

Escamas. Número de escamas en la serie lateral, contadas desde la primer escama libre del opérculo hasta la base del pedúnculo caudal, la cual se reconoce como la última escama que se levanta al doblar la aleta caudal.

Literatura citada.

HUBBS, C. L. y K. F. Lagler 1964. Fishes of the Great Lakes Region. The Cranbook, Bloomfield Hills, Michigan. 186 pp.

ANEXO III. Protocolos para alozimas

Preparación del gel de almidón

Para la preparación del gel al 10%, se pesan 50 g de almidón hidrolizado (que en el presente estudio fue Sigma S-4501), los que se agregan a un matraz kitasato de 2 l con 350 ml de solución amortiguadora para el gel, se agita intensamente hasta lograr su suspensión. Posteriormente se agregan 150 ml de amortiguador precalentado a punto de ebullición, y se agita intensamente hasta lograr la mezcla completa, la cual es caracterizada por un color hialino y por la consistencia de la mezcla espesa y viscosa. Inmediatamente se aplica vacío, a través de una trampa con hielo para los vapores, durante 45 a 50 segundos para eliminar al máximo el aire que hubiese quedado atrapado durante la agitación.

La mezcla de almidón se vacía cuidadosamente en un contenedor (construido con un marco de acrílico de 25 x 15 x 1 cm colocado sobre un vidrio). Se eliminan las burbujas formadas con una pipeta Pasteur y se cubre cuidadosamente con un vidrio, sin que atrape aire. El gel se deja enfriar 4 horas.

Posteriormente se insertan mechas de papel (Whatman no.3 de 1 x 0.5 cm) saturadas con las muestras en forma individual para cada organismo, en un corte a lo largo del gel, a unos 3.5 cm del borde catódico, así como una mecha empapada con azul de bromofenol al 0.002%, la cual sirve de indicador del sentido y velocidad del corrimiento electroforético.

El gel preparado se coloca en la cámara electroforética en contacto por los extremos con la solución amortiguadora específica, por medio de papel filtro (Whatman no.1, de 25 x 8 cm).

La electroforesis se corre a una temperatura constante de 4°C, con el auxilio de una fuente de poder HBI, en la cual se fijan los valores máximos de volts, miliamperes, watts y tiempo.

Una vez transcurridos 15 minutos del inicio de la electroforesis, se retiran cuidadosamente las mechas de los geles y se asegura el contacto completo entre las dos partes del gel.

Las mezclas histoquímicas de tinción específica se preparan 45 minutos antes del término de la corrida electroforética.

Al término de la electroforesis, el gel se rebana en capas de 2.5 mm de espesor. Las rebanadas se revelan en recipientes individuales con las soluciones histoquímicas específicas, y se incuban a 37°C hasta la aparición de las bandas. Para detener la reacción se elimina la solución histoquímica y se agrega la solución fijadora. Los geles se pueden conservar en bolsas de plástico de cierre hermético.

Para la interpretación de los geles teñidos con las soluciones histoquímicas (zimogramas), se considera la estructura de la proteína revelada. En los zimogramas se discrimina cuando entre loci génicos la variación de una zona de actividad no afecta a otra.

A continuación se describen los protocolos y proporciones de mezclas para la preparación de soluciones utilizadas.

Relación de sistemas enzimáticos, amortiguadores y número de clasificación asignado.

#	Abreviatura	NOMBRE	Amortiguador	E.C. No.
1	AAT	Aspartato aminotransferasa	A	2.6.1.1
2	EST	Esterasa	B	3.1.1.1
3	G6PD	Glucosa 6- fosfato deshidrogenasa	C	1.1.1.49
4	GADP	Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa	B	1.2.1.12
5	IDH	Isocitrato deshidrogenasa	A	1.1.1.42
6	LDH	Lactato deshidrogenasa	A	1.1.1.27
7	MDH	Malato deshidrogenasa	A	1.1.1.37
8	ME	Enzima málica	A	1.1.1.40
9	MPI	Manosa fosfato isomerasa	C	5.3.1.8
10	PEP	Peptidasas	C	3.4.11.13
11	PGM	Fosfoglucomutasa	A	5.4.2.2
12	PT	Proteinas generales	C	-----

Solución de homogeneizado.

v	100	Tris- HCl, 0.1 M pH 8	250 ml
p	0.1	NAD ⁺	0.25 mg
p	0.1	NADP ⁺	0.25 mg
p	1	PVP (Polivinil pirrolidona)	2.5 mg

Sistemas enzimáticos

Se indican las cantidades de reactivo para 50 ml, requeridos para cubrir una rebanada de gel.

1. AAT o GOT

Reactivo	para 50 ml
Solución sustrato AAT	25 ml
Agua destilada	25 ml
Azul rápido BB	125 mg

Post-unión: tomar 5 ml de la mezcla de solución sustrato y agua y agregarle el azul rápido. Incorporar al gel después de 15 minutos de incubación a 37 °C.

AAT. Solución sustrato pH 7.4

Acido α -cetoglutárico	73 mg
Acido L-aspártico	266mg
Polivinilpirrolidona	1.0 g
EDTA- Na ₂	100 mg
Na ₂ HPO ₄	2.84 g
Agua destilada	100 ml

Se puede almacenar en refrigeración hasta por un mes.

2. EST

Reactivo	para 50 ml
Azul rápido BB (Sal)	50 mg
Solución sustrato EST	1.5 ml
Tris- HCL 0.5 M pH 7.1	5 ml
Agua destilada	43.5 ml

EST. Solución sustrato.

1 naftil acetato α	50 mg
2 naftil acetato β	50 mg
Acetona	2.5 ml
Agua destilada	2.5 ml

Se puede almacenar en refrigeración hasta por quince días, en frasco ámbar.

3. G6PD

Reactivo	para 50 ml
Glucosa 6 fosfato	80 mg
NADP ⁺	15 mg
MTT al 1 %	1 ml
PMS al 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.5 M pH 7.1	12.5 ml
Agua destilada	35.5 ml

4. GADP

Reactivo	para 50 ml
NAD ⁺	25 mg
Arseniato de sodio	90 mg
Solución sustrato GADP	5 ml
MTT al 1 %	1.5 ml
PMS al 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.5 M, pH 7.1	10 ml
Agua destilada	32.5 ml

GADP. Solución sustrato.

D-fructuosa 1, 6 difosfato	273 mg
Aldolasa	0.09 ml
Tris- HCl 0.5 M, pH 7.1	2 ml
Agua destilada	3 ml

Mezclar e incubar a 37°C por 30 minutos

5. IDHP

Reactivo	para 50 ml
Isocitrato de sodio	70 mg
NBT	10 mg
NADP ⁺	15 mg
MgCl ₂ al 10%	0.2 ml
PMS al 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.1 M, pH8.0	48.8 ml

6. LDH

Reactivo	para 50 ml
NAD ⁺	25 mg
Solución sustrato LDH	5 ml
MTT al 1 %	1.5 ml
PMS al 0.1%	1 ml
Tris-HCl 0.5 M, pH 7.1	35 ml

LDH. Solución sustrato.	
Acido láctico 80 %	562 mg
Na ₂ CO ₃ 1 M	2.45 ml
Agua .destilada	1.987 ml

Se puede almacenar en refrigeración en recipiente ámbar, hasta por un mes.

7. MDH

Reactivo	para 50 ml
Solución sustrato MDH	10 ml
NAD ⁺	50 mg
MTT al 1%	1.5 ml
PMS al 0.1%	1 ml
Tris-HCl 0.1 M pH 7.0	5 ml
Agua destilada	37.5 ml

MDH. Solución sustrato.	
DL-ácido málico	13.4 g
Na ₂ CO ₃ , 2 M	49 ml
Agua destilada	51 ml

Ajustar a pH 7.0. Se puede almacenar en refrigeración hasta por un mes.

8. ME

Reactivo	para 50 ml
NADP ⁺	10 mg
NBT	10 mg
Solución sustrato MDH	2.5 ml
PMS al 0.1%	10 ml
MgCl ₂ al 10 %	0.1 ml
Tris-HCl 0.1 M pH 8.4	10 ml
Agua destilada	27.5 ml

9. MPI

Reactivo	para 35 ml
Manosa 6 fosfato	20 mg
NADP ⁺	5 mg
Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa	20 unidades
Glucosa fosfato isomerasa	21 unidades
MTT	5 mg
PMS	2 mg
Cloruro de magnesio (hexahidratado)	20 mg
Tris-HCl 0.1 M, pH 8.0	20 ml

Se calientan a punto de ebullición, por separado, 400 mg de agar en 15 ml. de Tris-HCl (1 M, pH8.0), después se mezcla con la solución, agitándose. El líquido se dispersa sobre la superficie. Evitando mover el gel, se incuba hasta que las bandas aparezcan. Puede guardarse a temperatura ambiente en oscuridad, durante toda la noche.

10. PEP

Reactivo	para 40 ml
Peptido- (Leu-Gly-Gly)	40 mg
Peroxidasa	20 mg
L-amino ácido oxidasa	10 mg
O-dianisidina	10 mg
Tris HCl 0.1 M, pH 8	40 ml

Se combina con solución de agar hervido, agitándose intensamente.

La solución de agar se prepara hirviendo 800 mg de agar en 30 ml de tris HCL 0.1 M pH 8, después se deja enfriar a unos 30 °C, se mezclan los reactivos con agitación y se agrega sobre la superficie del gel. Evitando mover el gel, se incuba a temperatura ambiente hasta que las bandas aparezcan.

11. PGM

Reactivo	para 50 ml
α -D-Glucosa 1 fosfato	250 mg
EDTA- Na ₂	25 mg
NBT	10 mg
NADP ⁺	5 mg
Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (100 u/ml)	40 unidades
MgCl ₂	0.1 ml
PMS 0.1 %	1 ml
Tris-HCl 0.1 M, pH 7.1	48.5 ml

12. PT

Solución de Azul de Coomasie, 2.5 %

Azul de Coomasie	1.25 g
Metanol	227 ml
Acido acético	46 ml
Agua destilada	227 ml

Se puede almacenar a temperatura ambiente.

1. Cubrir el gel con azul de Coomasie 2.5%, por una hora.
2. Enjuagar con solución fijadora y destañidora y dejar 24 horas en esta solución, con agitación.

Solución fijadora y destañidora.

Metanol	600 ml
Acido acético	200 ml
Agua destilada	1200 ml

Amortiguadores para electroforesis

Amortiguador A (Tris-citrato continuo, pH 8.0).

Electrodo

Tris 0.687 M

Ac. cítrico 0.157 M

Gel

Tris 0.0229 M

Ac. cítrico 0.0052 M

Amortiguador B, (Aminopropil-morfolina, pH 6.1).

Electrodo

Acido cítrico 0.04 M

Se estabiliza el pH con amino propil morfolina

Gel

Acido cítrico 0.002 M

Se estabiliza el pH con amino propil morfolina

Amortiguador C (Poulik.- Discontinuo).

Electrodo; pH 8.2

Ac. Bórico 0.3 M

Na OH 0.06 M

Gel ; pH 8.7

Tris 0.076 M

Ac. cítrico 0.005 M

Soluciones stock

Solución PMS. 0.1 %

PMS.....50 mg

Agua 50 ml

Se puede almacenar en refrigeración hasta por quince días, protegida de la luz.

Solución MTT 1 %

MTT 1 g

Agua 100 ml

Se puede almacenar en refrigeración hasta por quince días protegida de la luz.

Solución de MgCl₂ al 10 %.MgCl₂ 10 g

Agua 100 ml

Se puede almacenar a temperatura ambiente.

ANEXO IV. Glosario

Alelo. Una de dos o más formas alternas de un gen que ocupa el mismo locus en un cromosoma particular y que difiere de otros alelos de ese locus en uno o más sitios mutacionales¹.

Alopátrica. De las poblaciones o especies que habitan en diferentes regiones geográficas⁴ y⁷.

Alozimas. Cualquiera de las formas múltiples de una enzima multimérica, en la cual las subunidades son codificadas por alelos del mismo gen¹. Formas enzimáticas alternativas ecodificadas por diferentes alelos de un mismo locus⁷.

Categoría de conservación. Estado en que se encuentra una especie o subespecie según la norma oficial vigente NOM-059-ECOL-1994. Las categorías de protección reconocidas oficialmente en México son: en peligro de extinción, amenazada, rara y en protección especial⁵.

Especie y subespecie en peligro de extinción. Es una especie o subespecie cuyas áreas de distribución o tamaño poblacional han sido disminuidas drásticamente, poniendo en riesgo su viabilidad biológica en todo su ámbito de distribución por múltiples factores, tales como la destrucción o modificación drástica de su hábitat, restricción severa de su distribución, sobre explotación, enfermedades, y depredación, entre otros.

Especie y subespecie amenazada. La que podría llegar a encontrarse en peligro de extinción si siguen operando factores que ocasionen el deterioro o modificación del hábitat o que disminuyan sus poblaciones. En el entendido de que especie amenazada es equivalente a especie vulnerable.

Especie y subespecie rara. Aquella cuya población es biológicamente viable, pero muy escasa de manera natural, pudiendo estar restringida a un área de distribución reducida, o hábitats muy específicos.

Especie y subespecie sujeta a protección especial. Aquella sujeta a limitaciones o vedas en su aprovechamiento por tener poblaciones reducidas o una distribución geográfica restringida, o para propiciar su recuperación y conservación o la recuperación y conservación de especies asociadas.

Clina. Un gradiente en las frecuencias de los genotipos o fenotipos a lo largo de un territorio ⁷.

Deriva génica. Fluctuaciones irregulares (al azar) en la frecuencia de alelos en una población de una generación a otra debido al tamaño finito poblacional o a la intensidad fluctuante de la selección. Estas fluctuaciones en la frecuencia de alelos puede conducir a la fijación de unos y a la extinción de otros sin importar su valor adaptativo ¹. Variación en la frecuencia de genes de una generación a otra, debido a cambios por fluctuaciones ⁷.

Diagnosis. Descripción concisa de un taxón con caracteres distintivos completos ².

Distancia genética. En genética de poblaciones es una medida cuantitativa de la relación genética entre dos individuos o poblaciones y a partir de la cual se puede construir un árbol evolutivo. La medida en términos de la probabilidad de poseer un gen o carácter dado en común. La diferencia genética acumulativa entre dos poblaciones es un resumen de sus historias evolutivas y es proporcional al tiempo de separación e inversamente relacionada a la inmigración entre ellas ¹.

Efecto del fundador. Deriva génica que se presenta por el establecimiento de una población por un pequeño número de individuos ⁷.

Electroforesis. Una técnica para separación de moléculas, basado en su movilidad diferencial en un campo eléctrico ⁷.

Equilibrio de Hardy-Weimberg. Un equilibrio de genotipos alcanzado en poblaciones de tamaño infinito (en las cuales no existe migración, selección o mutación) después de al menos una generación con reproducción panmítica. Con dos alelos A y B con frecuencias p y q , respectivamente, las frecuencias de los genotipo AA , AB y BB , en el equilibrio de Hardy Weimberg son p^2 , $2pq$, q^2 , respectivamente ¹.

Endémica. Taxón confinado a una región dada ².

Especiación. Proceso de formación de nuevas especies ³. Termino general para un número de procesos y mecanismos diferentes, los cuales involucran la producción de nuevos linajes evolutivos o especies ⁴. Del modelo clásico de aislamiento geográfico, se plantean tres modos generales, partiendo de que la especiación es la abrupta bifurcación de una línea de descendientes ⁶.

Especiación Alopátrica. Una población es dividida en dos partes totalmente aisladas, donde divergen genéticamente; posteriormente, la división puede desaparecer.

Especiación Alopátrica I (especiación alopátrica vicariante o geográfica), ocurre como resultado de una especie ancestral, en la que se presenta una separación física en dos o más poblaciones, con la subsecuente divergencia del linaje. En este caso las especies hermanas son alopátricas. Puede ser estimada resumiendo la distribución de especies descendientes y los puntos de disyunción geográfica corresponde a las fronteras históricas establecidas por los cambios físicos.

Especiación Alopátrica II (especiación alopátrica por aislamiento periférico). Supone una nueva especie que surge en la periferia

(ecológica o fisiográficamente definida) de una gran población ancestral. La especies parentales, que ocupan el ámbito central, pueden ser plesiomórficas en relación a las características de las especies descendientes. Las especies periféricas pueden exhibir uno o más rasgos autopomórficos y concurrir en localidades periféricas relativas al antecesor.

Especiación Parapátrica. En la distribución de un grupo de organismos, se establece una clina en respuesta directa a las variaciones ambientales, pudiéndose producir aislamiento reproductivo. La especiación parapátrica, resulta de la diferenciación poblacional en especies descendientes a pesar de algún flujo génico y traslape geográfico durante el proceso. Este proceso produce especies hermanas que exhiben distribución geográfica parapátrica.

Especiación simpátrica. Requiere el mantenimiento de polimorfismos por selección disruptiva en donde los genotipos reducen la aptitud, la frecuencia de entrecruzamientos entre los subgrupos es reducida y eventualmente eliminada. La especiación simpátrica, ocurre sin segregación geográfica. Se estima entre especies que provienen de una especie extinta y que la simpatría en el presente refleja simpatría en tiempos de especiación.

Especie exótica. Que procede de otro hábitat o región geográfica, es decir que está fuera de su ámbito de distribución original.

Especie nativa. Especie histórica y evolutivamente autóctona de las regiones referidas.

Especie. Existe una considerable controversia de esta entidad biológica. Desde el punto de vista filogenético, la especie es un linaje que representa la mayor unidad de evolución y está asociada a un proceso de especiación, donde la especie es representada por un brazo o internodo⁴ o como un grupo monofilético compuesto de

los menores grupos diagnosticables de organismos individuales donde existe un patrón parental de ancestro y descendiente³. La aplicación de dicho concepto no debe entrar en contradicción con el criterio fenetista ni el biológico de especie. En el concepto fenetista se considera a la especie como la unidad taxonómica operacional⁴. En la actualidad sigue siendo incuestionable y con mayor influencia el concepto biológico de especie, donde se considera que las especies son sistemas de poblaciones: el intercambio genético entre estos sistemas es limitado o prevenido por un mecanismo de aislamiento reproductivo o por la combinación de otros mecanismos³. La unidad básica de clasificación taxonómica, formada por un conjunto de individuos que presentan características morfológicas, etológicas y fisiológicas similares, que son capaces de reproducirse entre sí y generar descendencia fértil, compartiendo requerimientos de hábitat semejantes⁵.

Especie y subespecie endémica. Es aquella especie o subespecie, cuya área de distribución geográfica es única y limitada.

Filogenia. Historia evolutiva de un organismo^{2 y 3}.

Filogeografía. Se refiere al estudio de los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes genealógicos, incluyendo aquellos de nivel intraespecífico³.

Fis. Conocido también como coeficiente de endogamia. Es una medida de la tasa de endogamia o el grado en el cual un individuo es endogámico. *Fis* poblacional. es la probabilidad de que dos genes en un locus tomados al azar en algún miembro de una población sean idénticos por descendencia, o la disminución promedio de la heterocigosis poblacional sobre todos los loci¹.

Frecuencias alélicas. La medida de la frecuencia de un alelo en una población, es decir, la proporción de todos los alelos de un gen específico en una población¹.

Fst. Conocido también como coeficiente de diferenciación genética. (1) Es la magnitud relativa de la diferenciación genética entre las subpoblaciones. (2) Es la reducción de la heterocigosis de una subpoblación debida a la deriva genética al azar¹.

Gen. Unidad de material de la herencia². La unidad básica de la herencia mendeliana que representa una secuencia de ADN (o ARN en algunos virus) correspondiendo usualmente a una unidad (rara vez dos o mas) de transcripción¹.

Genotipo. Factorial genético constitutivo de un individuo. Grupo de individuos que poseen la misma constitución genética². Es la suma total de la información genética contenida en los cromosomas. El genotipo no determina un fenotipo único sino un ámbito de capacidades fenotípicas referidas como una "norma de reacción" individual al ambiente. La contribución de un genotipo particular en el acervo genético de la siguiente generación está determinado por la viabilidad y éxito reproductivo de sus portadores¹.

Heterocigoto. Que posee dos alelomorfos diferentes en los dos loci de un par de cromosomas².

Heterocigosis. La condición de poseer un par de alelos disímiles en un locus. La heterocigosis proporciona un almacén de reservas genéticas y plasticidad potencial que permite que una proporción de individuos exhiban combinaciones de propiedades fenotípicas cercanas al óptimo¹.

Homocigoto. Que posee un solo alelomorfo en los dos loci de un par de cromosomas².

Localidad tipo [=típica]. Lugar geográfico del que es originario el holotipo (ejemplar tipo) de un taxón⁸.

Locus (pl. loci). La posición ocupada, en todos los cromosomas homólogos, por un gene particular o uno de sus alelos².

Monofilético. Taxón que consiste de individuos que descienden de un ancestro común, el cual es miembro del mismo taxón².

Polimorfismo. La presencia regular y simultánea, en la misma población, de dos o más alelos (o genotipos) en el mismo locus¹. Que tienen varias formas diferentes, usado particularmente para diferentes tipos de individuos que pertenecen a la misma especie, que aparecen en proporciones constantes dentro de una población libremente hibridizante².

Proteína. Compuesto orgánico muy complejo, constituido por varios aminoácidos².

Reloj molecular. Es una hipótesis que postula que la tasa de evolución molecular es aproximadamente constante sobre el tiempo entre diferentes linajes evolutivos y que refleja el tiempo de divergencia entre los taxa. Esto implica que las mutaciones de genes ocurren a un intervalo suficientemente regular que permite el fechado de las dicotomías filogenéticas¹.

Selección natural. Es el resultado de dos actividades impuestas sobre todos los organismos vivos: (1) la necesidad de reproducción y (2) la necesidad de una interacción permanente con el ambiente. La interacción de los dos factores dan como resultado una reproducción diferencial. La selección natural da dirección a los cambios (mutaciones, recombinaciones), orienta las oportunidades, filtra las adaptaciones genotípicas y promueve lentamente los cambios evolutivos¹.

Sinamorfias. Caracteres homólogos que se encuentran en dos o más taxa que se hipotetiza se han emitido de la especie ancestral más cercana a estos taxa y no de otro ancestro más antiguo⁴.

Subespecie. Subdivisión de una especie que forma un grupo cuyos miembros se asemejan entre sí en ciertas características, y difieren de otros miembros de la especie, aunque no haya una línea divisoria entre ellos. Se excluye el polimorfismo² División de la

especie en categorías infraespecíficas, que debido a diversas variaciones resultan diferentes fenotípica y genotípicamente ⁵. Categoría más baja reconocida en el código taxonómico ⁸.

Taxón. Término generalmente usado para un grupo taxonómico, cualquiera que sea su jerarquía ². Un grupo de organismos que posee nombre propio ⁸.

Taxonomía. Es el estudio de la clasificación de los organismos de acuerdo a sus semejanzas y diferencias ², basado en la aplicación de una serie de normas y procedimientos establecidos.

Vicariante. Especie perteneciente a un grupo de especies muy relacionadas, cuya distribución fue producida por un proceso de especiación alopátrica ².

Zimograma. Es el patrón de un gel electroforético de alozimas visualizado por medio de una tinción histoquímica ¹.

Referencias.

- ¹ GRIJALVA-CHON, M. 1995. Análisis genético poblacional del pez espada (*Xiphias gladius*) en el Oceano Pacífico. Tesis Doctorado. CICESE. Ensenada, México. 87 pp.
- ² JIMENEZ-ORTEGA, Javier. 1979. Diccionario de Biología. Ed. Concepto. México. 322 pp.
- ³ AVISE, J. C. 1994. Molecular markers natural history and evolution. Chapman-Hall. New York. 511 pp.
- ⁴ WILEY, E. O. 1981. Phylogenetics: The theory and Practice of Phylogenetic Systematics. John Wiley, New York. 439 pp.
- ⁵ SEDESOL. 1994. Norma oficial mexicana NOM-059-ECOL-1994, que determina las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas, en peligro de

extinción, amenazadas raras y sujetas a protección especial, y que establece especificaciones para su protección. Diario Oficial 16 de Mayo. 488 (10)(Primera sección): 42-75.

- ⁶ MYERS, A. A. y P. S. Giller. 1988. *Analytical Biogeography: An Integrated Approach to the Study of Animal and Plant Distribution*. Chapman-Hall, New York. 578 pp.
- ⁷ AYALA, F. J. y J. A. Kiger. 1980. *Modern Genetics*. The Benjamin/Cummings, Menlo Park, California. 844 pp.
- ⁸ ALVARADO, R., F. D. Calonge y J. Izco. 1975. *Nomenclatura Biológica; Código Internacional de Nomenclatura Botánica; Código Internacional de Nomenclatura Zoológica*. H. Blume, Madrid España. 353 pp.

ADDENDUM. Propuesta de manejo

Introducción

De los resultados obtenidos en el presente trabajo podemos concluir que el estado de conservación de las especies de fundúlidos peninsulares es diferente, ya que en *F. parvipinnis* se presenta una alta variabilidad genética dentro de los intervalos esperados, en contraste con *F. lima*, que es baja.

La especie *F. parvipinnis* ha sido tradicionalmente utilizada como carnada viva, aunque no existe una explotación comercial al respecto. Con base en los recorridos efectuados y entrevistas con pescadores, se puede considerar tres factores determinantes para su nula explotación : (1) escasa pesca en la región que demande carnada viva, (2) uso de otras especies como carnada, y (3) desconocimiento del recurso.

El estado de conservación de *F. parvipinnis parvipinnis* es considerado como estable (Ruiz-Campos *et al.*, 1998b). Para su manejo como carnada viva presenta diversas ventajas, tales como alta tolerancia a las variaciones ambientales como temperatura y salinidad, lo que permite un relativo fácil transporte y mantenimiento temporal. Por lo anterior, se recomienda efectuar estudios tendientes a la explotación racional del recurso, donde se propongan tasas y épocas de captura.

En contraste, *F. lima* presenta baja variabilidad genética, la cual aunada a la disminución de sus poblaciones naturales por efecto de la reducción del hábitat, introducción de peces exóticos y otros impactos antropogénicos, se ha sugerido considerarla en riesgo significativo de extinción (Ruiz-Campos *et al.*, 1998a).

Conservación de *F. lima*

El hallazgo de una baja variabilidad genética en una población puede ser el resultado de diversos factores, tales como: efecto de fundador, selección en contra de heterocigotos, cuellos de botella, metodología de trabajo (Tamarin, 1996), fragmentación, y reducción de las poblaciones (Gall, 1988).

En el presente trabajo, la baja variabilidad genética registrada en *F. lima*, se considera que está principalmente relacionada con un efecto de la fragmentación y reducción de las poblaciones, aunque no es posible descartar el efecto de uno o varios de los otros factores relacionados al hallazgo de la baja variabilidad genética.

La baja variabilidad genética tiene un efecto en la probabilidad que determina la persistencia de la especie (Caughley y Gumm, 1996), que incrementa la susceptibilidad a diversos efectos genéticos, como la endogamia, la pérdida de flexibilidad evolutiva y la depresión por hibridación (Primack, 1993). Las consecuencias de la baja variabilidad genética se potencializan en poblaciones reducidas, al aumentar la probabilidad de variación al azar de las frecuencias génicas en una o pocas generaciones por el efecto de la deriva génica. Un tamaño poblacional reducido con baja variabilidad genética está asociado a fluctuaciones demográficas, disminuciones súbitas en número y desapariciones locales (Primack, 1993).

Para determinar la evolución de los riesgos que tiene una población con estas características, se recomienda el monitoreo en el tiempo de la variabilidad genética (Caughley y Gumm, 1996), lo que adicionalmente brindaría una mayor información sobre los factores causales y consecuencias de la baja variabilidad. Por lo anterior, y con fundamento en los resultados obtenidos en el presente trabajo respecto a la baja variabilidad genética de *F. lima*, se propone reconsiderar la categoría del estado de

conservación de *F. lima*, de especie amenazada a especie en riesgo de extinción, lo que coincide con la evaluación recientemente realizada por Ruiz-Campos *et al.* (1998a).

Se han sugerido diversos tratamientos para recuperar especies en vías de extinción, como pueden ser la protección del hábitat y la conservación *ex situ* (Caughley y Gumm, 1996).

Protección del hábitat.

El Oasis de San Ignacio, localidad tipo de *F. lima*, se encuentra ubicado en la zona de amortiguamiento de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno, decretada el 30 de noviembre de 1988 (Breceda *et al.*, 1991). Las zonas de amortiguamiento están destinadas como zonas de protección del impacto exterior a la zona núcleo de la Reserva de la Biosfera. En dichas zonas se autoriza la realización de actividades productivas que permitan la conservación de los ecosistemas (SEDUE, 1990).

Las principales actividades productivas que se realizan en la región son la agricultura y la pesca. La agricultura se realiza principalmente en el Valle del Vizcaíno, con restricciones asociadas a la escasez del recurso hidrológico. La actividad pesquera está dirigida a los recursos marinos de las zonas costeras aledañas. Adicionalmente, el sector secundario está restringido por la situación geográfica aislada de la localidad y está enfocado a la transformación de algunas materias primas producidas en la región. El sector terciario está enfocado al abasto de productos y servicios básicos, con un turismo marginal (Castellanos y Mendoza, 1991).

La protección del hábitat de *F. lima* es congruente con la legislación (SEDUE, 1990) y podemos considerar que no modifica las actividades productivas de la región, por lo que se sugiere incluir al Oasis de San Ignacio dentro de las zonas de protección especial de la Reserva de la Biosfera del Vizcaíno, y considerarla como un área de resguardo y conservación de germoplasma endémico.

El principal impacto antropogénico observado en el Oasis de San Ignacio, es la introducción de peces exóticos, como *Poecilia reticulata*, *Xiphophorus helleri* y *Cyprinus carpio*. De éstas especies sobresale *X. helleri*, la cual presenta un alto traslape trófico con *F. lima* (Alaniz-García, 1995). La introducción de peces exóticos en otros oasis de Baja California Sur, particularmente de tilapia (*Tilapia* spp.), se ha asociado con la disminución numérica de las poblaciones de *F. lima* (Ruiz-Campos *et al.*, 1998a), mediante exclusión competitiva por hábitat.

Para amortiguar el impacto provocado por las especies introducidas, el establecimiento de programas dirigidos a la extracción selectiva de las especies exóticas pueden brindar resultados adecuados.

Conservación *ex situ*.

La realización de cultivos *ex situ* como estrategia de conservación de los recursos naturales ha sido aplicada en diversas especies (Caughley y Gumm, 1996). Esta estrategia de conservación debe estar diseñada para mantener la heterocigosis e identidad de las subpoblaciones evolutivamente divergentes (Nielsen *et al.*, 1997).

De forma colateral a la realización del presente trabajo, diez ejemplares de *F. lima* se transportaron vivos al Bioterio de la Facultad de Ciencias (Universidad Autónoma de Baja California), donde se mantuvieron en acuarios en condiciones estándar por un periodo de seis meses. En dicho período se observó una alta mortalidad (80%) asociada a la aclimatación al cultivo y al parasitismo del nemátodo *Contraecaecum multipapillatum*, presente en la totalidad de los organismos. Este nemátodo utiliza a *F. lima* como huésped intermedio, para ser las aves ictiófagas los huéspedes definitivos. Este parásito ocupa como huésped intermediario a una amplia gama de especies ícticas, pudiendo provocar la muerte de los organismos juveniles (Valles-Ríos, 1997). El parasitismo observado en *F.*

lima en condiciones de cautiverio, permite sugerir que para su mantenimiento *ex situ*, los organismos deberán estar exentos de parásitos para ser seleccionados.

Las estrategias de conservación *ex situ* aplicables a la ictiofauna continental, incluyen la conservación en medios de diferente nivel de complejidad, desde acuarios, espacios en zoológicos, el uso de otros sistemas acuáticos disponibles y el acondicionamiento de nuevos hábitats.

En cuanto al manejo en acuarios, *F. lima* ha despertado el interés en grupos de acuaristas como el "San Diego Killifish Group", que ha efectuado expediciones a la península de Baja California para recolectar organismos (Stowell, 1980). Con algunos de estos organismos se logró la reproducción en condiciones de acuario y se describió su conducta reproductiva (Brill, 1982).

Los cultivos en acuarios particulares (como los de Stowell, 1980, y Brill, 1982), son una alternativa para conservación de *F. lima*. Los grupos organizados de acuaristas en diferentes países promueven la conservación de especies en peligro a través de su estudio, por ejemplo, la Asociación Norteamericana de Peces Nativos ("North American Native Fishes Association"). En México son prácticamente inexistentes este tipo de asociaciones.

Desde un punto de vista popular, este tipo de asociaciones promueve la conservación de los organismos en cautiverio, aunque comunmente con la desventaja de centrar la atención en el valor ornamental y consecuentemente ignorada la variabilidad genética o la propia recuperación de las poblaciones naturales.

El manejo por particulares de una especie en peligro, conlleva otros riesgos derivados de la comercialización y tráfico ilegal de especies, lo que exige establecer adecuadas políticas gubernamentales. Por tal motivo, el establecimiento de sistemas de cultivo dependientes de las instituciones públicas, pueden brindar un adecuado control en

el manejo de las especies en peligro de extinción, particularmente en las universidades en donde existen profesionistas en materia ambiental que actualmente coordinan programas en conservación y recuperación de poblaciones naturales.

Por lo antes expuesto, se sugiere realizar una selección de organismos de *F. lima* del Oasis de San Ignacio, para que sean destinados a sistemas de cultivo que tienen como objetivo la conservación de recursos.

La identificación de oasis en los que hay poco impacto antropogénico, por introducción de exóticos, y en los que adicionalmente sea permisible establecer políticas de protección y programas de manejo, representaría un siguiente paso en la búsqueda de estrategias de conservación *ex situ*.

Difusión.

El establecimiento de programas de protección de especies que están desvinculados con los sectores sociales y productivos, pueden tener baja repercusión desde este contexto, por lo que es recomendable establecer programas de difusión de forma colateral.

La especie endémica *Fundulus lima* es poco conocida por los habitantes de la región, inclusive en el mismo poblado de San Ignacio, aledaño al oasis, por lo cual se recomienda el inicio de programas de difusión acerca de este recurso.

Conservar a *F. lima*, involucra mantener a una de las dos únicas especies ícticas endémicas de la península de Baja California, que se encuentra en una de las Reservas de la Biosfera (Reserva de la Biosfera del Vizcaíno), dentro de una estrategia nacional para preservar la Biodiversidad de México.

Síntesis

En conclusión se recomienda: (1) Reconsiderar la categoría del estado de conservación de *F. lima*, de “amenazada” por el de “riesgo de extinción”; (2) Incluir al Oasis de San Ignacio dentro de las zonas de protección especial de la Reserva de la Biosfera del Vizcaíno, como un área de resguardo y conservación de germoplasma endémico; (3) Prohibir la introducción de especies exóticas en la cuenca hidrológica de San Ignacio y en otras dentro del ámbito de distribución de *F. lima*; (4) Realizar una selección de organismos de *F. lima* para destinarlos a sistemas de cultivo *ex situ* en apoyo a los programas de conservación de este recurso; y (5) Efectuar en forma extensiva trabajos de difusión acerca de esta especie, dirigidos a los habitantes de la región.

Literatura citada.

- ALANIZ-GARCÍA, J. 1995. Interacción trófica entre dos especies ícticas, *Fundulus lima* Vaillant y *Xiphophorus helleri* Heckel, en el oasis de San Ignacio, Baja California Sur, México, Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California. México. 81 pp.
- BRECEDA, A.; A. Castellanos; L. Arriaga y A. Ortega. 1991. Conservación y áreas protegidas. *In*: Ortega, A. y L. Arriaga (eds.). La Reserva de la Biosfera El

- RUIZ-CAMPOS, G.; S. Contreras-Balderas; M. L. Lozano-Vilano; S. González-Guzman y J. Alaniz-García 1998b. Estatus ecológico distribucional de los peces continentales del noroeste de Baja California, México: Distrito San Dieguense. Informe Técnico Proyecto 431100-5-1993PN, CONACYT. 150 pp.
- SEDUE. 1990. Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. 10 ed. Porrúa, México. 682 pp..
- STOWELL, C. H. 1980. In search of *Fundulus lima*. Freshwater and Marine Aquarium: Marzo: 11-18, 86, 88-89.
- TAMARIN, R. H. 1996. Principios de Genética. Reverte. Barcelona. 704 pp.
- VALLES-RÍOS, M. E. 1997. Estudio comparativo y cuantitativo de macroparásitos en peces de la región del Río Colorado- Hardy, Baja California, México. Tesis Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California. México. 78 pp.

Indice de protocolos

Relación de sistemas enzimáticos, amortiguadores y número de clasificación asignado.	62
Solución de homogeneizado.	62
1. AAT o GOT	62
AAT. Solución sustrato pH 7.4	63
2. EST	63
EST. Solución sustrato.	63
3. G6PD	63
4. GADP	64
GADP. Solución sustrato.	64
5. IDHP	64
6. LDH	64
LDH. Solución sustrato.	65
7. MDH	65
MDH. Solución sustrato.	65
8. ME	65
9. MPI	66
10. PEP	66
11. PGM	67
12. PT	67
Solución fijadora y destañidora.	67
Amortiguador A (Tris-citrato continuo, pH 8.0).	68
Amortiguador B, (Aminopropil-morfolina, pH 6.1).	68
Amortiguador C (Poulik.- Discontinuo).	68

Solución PMS. 0.1 %	68
Solución MTT 1 %	69
Solución de $MgCl_2$ al 10 %.	69