

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



“VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Tilapia cf. zilli* (TELEOSTEI: CICHLIDAE) EN LOS OASIS DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO”

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

ALAIN GABRIEL JULLIAN MONTAÑEZ

ENSENADA B. C. MÉXICO.

ENERO DE 2005.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

**“VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Tilapia cf. zilli* (TELE OSTEI:
CICHLIDAE) EN LOS OASIS DE BAJA CALIFORNIA SUR,
MÉXICO”**

TESIS PROFESIONAL

QUE PRESENTA

ALAIN GABRIEL JULLIAN MONTAÑEZ


APROBADO POR:



DR. FAUSTINO CAMARENA ROSALES
DIRECTOR



DR. GORGONIO RUIZ CAMPOS
CODIRECTOR



DR. EUGENIO CARPIZO ITUARTE
PRIMER VOCAL

ENSENADA B. C. MÉXICO.

ENERO DE 2005

Adhuc sub iudice lis est

¡La tortuga se mueve!

DEDICATORIA

De aquí...

Meredith Gould, Pedro Ruiz y Jorge de la Rosa (y a la labor que ellos hacen).

De allá...

Mi familia. En donde destacan: Mi Abuela Alicia Alaniz, mi Madre Marina Montañez, y mi hermano Christian Jullian.

Del más allá...

Mi abuelo Cuitlahuac Montañez y todos los "monstruos" intelectuales sobre los cuales se fundamenta el llamado "conocimiento", los cuales no pueden ser enlistados en un tomo, y que dejo a la discreción del lector...

"Los seleccionamos para dedicarles esta tesis".

AGRADECIMIENTOS

A mis directores que me tuvieron paciencia (Faustino, Gorgonio, de verdad muchas gracias sin ustedes no se hubiera hecho nada de esto).

A los "Cuatro Fantásticos" del curso de EMBA (Jorge de la Rosa, Eugenio Carpizo, Francisco Correa y Faustino Camarena). Por prestarme su sueño.

Paty gracias por recordarme todo el tiempo el por qué y para qué es que debemos echarle ganas.

Valeee... jeje, el que se titula al último se titula mejor, confieso: mi mentor, es mentora y es la misma a la que Luis Enríquez dedicó su tesis de maestría: "Mi terquedad", eso es lo que hace que la ciencia avance, otros, menos afortunados, necesitan mentores humanos. Así que ya confesé (para más datos ver la tesis de Ricardo Valencia).

Chano, hay que salvar al *Fundulus lima*, aunque no se me ocurre nada para lograrlo, se que tú puedes con el paquete. Y ya no seas tan reduccionista, en pro de una relación más sana con el ecosistema de científicos al que perteneces.

A Blanca Romero (Blanquita), una de las personas más eficientes en su trabajo que he conocido. Y, por supuesto, a la "banda" del posgrado de la FC. César ¡Ganaron nuestros Pumas!

Otros agradecimientos (Enlistados por orden aproximado de aparición):
M.C.M. Humberto Carrillo, María Félix, Luciana Luna, Ángel Guillén, Emma Flores,

Adalberto Ortiz, M.C.Claudia Leyva –que además merece todo el crédito por cargar la loza de tenerme como tutorado- M.C.Miguel Ángel Ortiz, M.C. Evarista Arellano, Dr. Alejandro Martínez, Ricardo Valencia, M.C.Olivia Tapia, Tanya Camacho, Karla Pliego, M.C.Pedro Ruíz, Dr.Mario Vargas, José Echánove, Dra. Meredith Gould, Dr. Jorge de la Rosa, Dr.Carlos Márquez, Dr. Eugenio Carpizo, Dr.Gorgonio Ruiz, Claudia (Paty) González, Oscar González, (de hecho toda la familia González-Lozano) Luis Enríquez.

Y por supuesto a “San” CONACYT, por el apoyo económico para la realización de esta tesis.

Maestros y Compañeros:

Sapere aude. Vita brevis.

Tesis de presentada como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en
BIOLOGÍA. Ensenada, Baja California, México. Enero de 2005.

**"VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Tilapia cf. zilli* (TELEOSTEI:
CICHLIDAE) EN LOS OASIS DE BAJA CALIFORNIA SUR,
MÉXICO"**

Resumen aprobado:

Dr. Faustino Camarena Rosales

Dr. Gorgonio Ruiz Campos

RESUMEN

Se analizó la variabilidad genética de poblaciones del pez exótico etiópico *Tilapia cf. zilli* en cuatro cuencas hidrológicas de Baja California Sur, mediante RAPD's con 4 cebadores y un total de 43 loci analizados. Los resultados obtenidos muestran la presencia de, por lo menos, tres stocks parentales, posiblemente relacionados con otros eventos de translocación. Éstas, principalmente, se evidencian con dos dendrogramas, uno de parsimonia y otro UPGMA. Se calcularon, también, θ_P , con un valor promedio de 0.2981, y las distancias insesgadas de Nei, siendo la mayor 0.5254, entre La Purísima y El Manantial, mientras que la menor fue de 0.0715 entre Ojo de Agua y Presa Carambuche. Este trabajo recomienda la realización de un estudio de viabilidad de utilización sustentable de éste pez como fuente de proteína animal para las comunidades humanas asentadas en las colindancias de los oasis, como una medida para proteger a la especie endémica y amenazada, *Fundulus lima*, por la introducción de *T. cf. zilli* en su ámbito de distribución.

ABSTRACT

The genetic variability of populations of the Ethiopian exotic fish *Tilapia cf zilli* was analyzed in four hydrological basins of Baja California Sur, by means of RAPD's with four primers and a total of 43 analyzed loci. The obtained results show the presence of, at least, three parental stocks, possibly related to other many translocations. These are mainly demonstrated with two dendrograms, one of parsimony and another of UPGMA. Also, it was calculated θ_P with a mean value of 0.2981 and Nei's unbiased distances, being the highest value (0.5254) between La Purísima and El Manantial, while the lowest was 0.0715 between Ojo de Agua and Presa Carambucho. This work recommends the performance of a viability study of sustentable use of this fish as a source of animal protein in the human communities seated in the vicinities of the oases, as a protection measurement to the threatened endemic killifish *Fundulus lima*, because of the introduction of *T. cf zilli* in its distribution range.

RESUMÉ

La variabilité génétique des populations du poisson exotique éthiopien *Tilapia cf zilli* a été analysé en quatre bassins hydrologiques de Baja California Sur moyennant RAPD's avec quatre initiateurs at un total de 43 (quarante-trois) loci analices. Les résultats obtenus montrent la présence de, au moins, trois stocks parentaux, possiblement relationés avec autres événements de translocation. Ceux-ci se sont manifestés par deux dendogrames, un de parcimonia et autre UPGMA. Ils se sont calculés aussi, θ_P , avec un valeur moyen de 0.2981 et les distances unbiased de Nei où la plus grande est de 0.5254, entre La Purisima et El Manantial, pendant que la plus petite est de 0.0715 entre Ojo de Agua et Presa Carambuche. Ce travail recommande la réalisation d'un étude de viabilité d'utilisation sustentable de ce poisson comme source de protéine animal pour les communautés humaines placés dans les lieux contigus de les oasis, comme une mesure de protection à l'espèce endémique et menacée *Fundulus lima* à cause de l'introduction de *Tilapia cf zilli* dans son milieu de distribution.

ÍNDICE DE CONTENIDO

VOTOS APROBATORIOS.....	I
DECLARATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	V
ABSTRACT.....	VI
RESUMÉ.....	VII
INTRODUCCIÓN.....	1
Características de <i>Tilapia zilli</i>	4
Origen, distribución y hábitat de <i>Tilapia zilli</i>	4
Alimentación, reproducción y requerimientos ecológicos.....	5
Importancia económica de la Tilapia.....	6
Área de estudio.....	8
Clima.....	9
Fenómenos climatológicos.....	11
ANTECEDENTES.....	12
OBJETIVOS.....	15
HIPÓTESIS.....	16
METODOLOGÍA.....	17
Muestreo ictiológico.....	17
Procesamiento de las muestras.....	19

RESULTADOS.....	22
Frecuencia de los loci.....	22
Valores de θ (Theta) P.....	24
Distancias Genéticas.....	26
Dendrograma de Parsimonia	28
Dendrograma UPGMA	34
DISCUSIONES	36
Frecuencia de los loci.....	36
Valores de Theta "P"	37
Distancias genéticas.....	39
Dendrograma de Parsimonia	40
Dendrograma UPGMA.....	42
Implicaciones.....	44
CONCLUSIONES.....	48
RECOMENDACIONES.....	50
LITERATURA CITADA.....	51
APÉNDICE	58
Frecuencias alélicas.....	58
Escala Saffir-Simpson.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA I. Localidades de recolecta de <i>Tilapia cf. zilli</i> en cuatro cuencas de Baja California Sur, México, indicando el número (N) de ejemplares analizados.	18
TABLA II. Resumen de los resultados del análisis de las frecuencias de loci compartidos en <i>Tilapia cf. zilli</i> de varias localidades de oasis de Baja California Sur, México.	23
TABLA III. Valores de Theta y Jackknife para los 43 Loci y su promedio, encontrado en las poblaciones de <i>Tilapia cf. zilli</i> recolectados entre los años 2002 y 2004	25
TABLA IV. Distancias genéticas insesgadas de Nei (1978).	27
TABLA V. Proporción de genotipos por clado según el dendrograma de parsimonia encontrado en las poblaciones de <i>Tilapia cf. zilli</i> recolectados entre los años 2002 y 2004.	31
TABLA VI. Distribución de genotipos por localidad dentro del dendrograma de Parsimonia de las poblaciones de <i>Tilapia cf. zilli</i> recolectados entre los años 2002 y 2004	33
Tabla VII. Frecuencias de los loci 1-6	58
Tabla VIII. Frecuencias de los Loci 7-12	59
Tabla IX. Frecuencias en los Loci 13-18	60

Tabla X. Frecuencias de los Loci 19-24.....	61
Tabla XI. Frecuencias de los Loci 25-30.....	62
Tabla XII. Frecuencias de los loci 31-36.....	63
Tabla XIII. Frecuencias de los Loci 37-42.....	64
Tabla XIV. Frecuencias de los Loci 43- 45.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de distribución de las diferentes poblaciones consideradas en el estudio.....	8
Figura 2. Dendrograma de parsimonia de los diferentes genotipos encontrados en las poblaciones de <i>Tilapia cf. zilli</i> de Las cuencas hidrológicas de San Ignacio, La Purísima, San Pedro de La Presa y San Javier. Recolectados entre los años 2002 y 2004.	29
Figura 3. Dendrograma UPGMA basado en la distancias de Nei (1978) de las 10 poblaciones consideradas.....	35

INTRODUCCIÓN

Los oasis de la península de Baja California, México, son ecosistemas frágiles, aislados y con alto endemismo específico, los cuales han sido recientemente impactados por actividad antropogénica a través de la introducción de especies exóticas que compiten o desplazan a la biota nativa (Ruiz-Campos et al., 2002).

En los ambientes dulceacuícolas de Baja California Sur, la ictiofauna nativa está representada por 19 especies, dos de ellas son consideradas endémicas (*Fundulus lima* y *Gobiesox juniperoserrai*) y otras seis como exóticas (*Cyprinus carpio*, *Poecilia reticulata*, *Gambusia affinis*, *Xiphophorus helleri*, *X. maculatus* y *Tilapia* cf. *zilli*) (Ruiz-Campos et al., 2002). Esta última especie es considerada el factor principal del declive poblacional de *Fundulus lima* a través de su ámbito de distribución (Ruiz-Campos, 2000), debido a que actualmente es la especie exótica más abundante en los oasis de Baja California Sur (Ruiz-Campos et al., 2002).

A partir de 1960 se introdujeron en México varias especies de cíclidos africanos conocidos comúnmente como "tilapias" (pertenecientes a la subfamilia Tilapiini que incluye a los géneros *Sarotherodon*, *Oreochromis* y *Tilapia*). En 1964 se introdujeron *Oreochromis mossambicus*, *O. rendallii* y *O. aureus*, y en 1979, *O. niloticus* y *O. urolepis hornorum* y al menos dos líneas de híbridos

“rojos” entre esos años (Klett, 2002; Fitzsimmons, 2000; Barriga-Sosa, 2004). Para 1986 se introdujo en Mérida el primer híbrido “rojo” de *O. niloticus* proveniente del Reino Unido y desde 1987 se tiene registro de la introducción de, al menos, otra línea producida en Colorado (EE.UU.) y una cepa albina y otra roja importadas desde Puerto Rico (Barriga-Sosa, 2004). Además algunas líneas de particulares han sido traídas en apoyo a los programas estatales y federales de introducción de tilapia (Fitzsimmons, 2000; Barriga-Sosa, 2004).

En los últimos 10 años, se efectuaron trasplantes de *Tilapia* cf. *zilli* en los diferentes oasis de Baja California Sur, observándose un incremento en sus densidades y áreas de distribución, no obstante, se desconocen las rutas seguidas en los trasplantes, así como la diversidad de procedencias de los peces introducidos (Ruiz-Campos et al., 2002).

Debido a su importancia económica en el pasado se realizaron estudios sobre los cariotipos de las especies pertenecientes a este género, sin embargo estos no resultaron útiles para la delimitación de las especies, ya que éstas oscilan desde los 32 cromosomas de *T. macrocephala* hasta los 48 de *T. grahami*, pero con el inconveniente de que estos cariotipos no se mantienen constantes dentro de estas mismas especies, ya que, por ejemplo *O. niloticus* presenta 3 cariotipos diferentes, *O. mossambicus* 4 y *T. zilli* 3, mientras que *O. urolepis hornorium* y *T. rendalii* poseen un cariotipo muy similar al reportado por dos de las referencias para *O. mossambicus*, sugiriendo dos cosas, primero,

que se asemejan más entre especies que dentro de la misma especie y segundo que existe una diversidad muy amplia, debido a esto dicha técnica puede resultar inadecuada para realizar estudios de variabilidad genética, necesitando metodologías más precisas (Arreguin, 1988), como las basadas en biología molecular para la evaluación directa del genoma, entre las que se incluyen los RAPD's (amplificación al azar del polimorfismo del ADN, por sus siglas en inglés, que fue denominada también AP-PCR por Partis en 1996).

La metodología de RAPD's ha sido utilizada para resolver diversas problemáticas entre las que se encuentran la identificación individual, análisis de paternidad, análisis filogenéticos (Parker et al., 1998), y para diferenciar algunas cepas de la misma especie en plantas, bacterias, animales y hongos (Luna 2003). Siendo considerada por Enríquez-Paredes (1999), como una técnica que tiene una resolución comparable con los microsatélites, ya que es eficiente para detectar variabilidad genética críptica, reduciendo los costos, en comparación con cualquier otro marcador bioquímico o molecular.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la variabilidad genética del pez exótico *Tilapia cf. zilli*, en oasis selectos de Baja California Sur, así como el de reconstruir las relaciones genealógicas entre los grupos, con el fin de obtener un diagnóstico de las poblaciones introducidas. La investigación es parte del proyecto "Evaluación ecológica y distribucional de peces exóticos en dos cuencas hidrológicas prioritarias de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno,

Baja California Sur, y su impacto en las poblaciones del pez endémico *Fundulus lima*.

Características de Tilapia zilli

La clasificación taxonómica de este taxón de acuerdo al criterio de Eschmeyer, (1998) se detalla a continuación:

Filo: Chordata

Subfilo: Gnatosthomata

Clase: Osteichthyes

Subclase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Suborden: Labroidei

Familia: Cichlidae

Subfamilia: Tilapiinae

Género: *Tilapia*

Especie: *zilli* (Gervais, 1848)

Origen, distribución y hábitat de *Tilapia zilli*

La tilapia "panza roja", *T. zilli*, es un pez que prevalece en los hábitat de aguas quietas (Lagler, 1990). Proviene del norte de África desde donde se ha dispersado artificialmente con fines acuiculturales y actualmente presenta una distribución cosmopolita (Pullin, 1982; Robins, 1991).

Los primeros testimonios sobre el aprovechamiento de las tilapias datan del año 2,500 A.C. en una tumba del antiguo Egipto, ya que se encontraron algunas pinturas que muestran la captura de dichos peces (Anónimo, 1986). Recientemente, *Tilapia zilli* ha sido introducida en Madagascar, Fiji, Taiwán, Gran Bretaña, Estados Unidos y México (Pullin, 1982). Específicamente en nuestro país hay registros de la introducción de esta especie desde 1984 (Contreras-Balderas, 1984; Welcomme, 1988), en Baja California [Norte] desde 1985 (Ruiz-Campos, 1985) y en Baja California Sur desde 1997 (Ruiz-Campos, et al. 2002).

Alimentación, reproducción y requerimientos ecológicos

La dieta de las tilapias se compone principalmente de algas filamentosas y cianofíceas, macrófitas acuáticas, aunque también consume materia de origen animal y restos vegetales provenientes de la ribera. Su comportamiento al alimentarse es estacional (más alto en primavera y constante en las demás estaciones) (Pullin, 1982).

Las tilapias alcanzan la madurez sexual alrededor de las 9-12 semanas de edad y realizan la incubación y protección de las crías en el sustrato de los estanques y, eventualmente, practican la incubación bucal de los huevecillos y los peces recién nacidos por parte de la hembra. Al terminar de absorber el saco vitelino, las crías se desplazan hacia las orillas en busca de alimento formando cardúmenes compactos (Anónimo, 1986).

La tilapia "panza roja" *T. cf zilli* tolera ámbitos térmicos entre los 6 y los 42 ° C, siendo sus límites de supervivencia los 11.2 y los 39.5 ° C. Su temperatura mínima para reproducción son los 20 ° C (Pullin, 1982, Halver, 2002) y la temperatura óptima reproductiva es de 29 ° C (Anónimo, 1986).

La *Tilapia zill* es eurihalina llegando a soportar las 45‰ en la laguna Bardewil (Pullin, 1982). Y tolera concentraciones de oxígeno disuelto tan bajas como 1 mg/L (Anónimo, 1986; Halver 2002).

Importancia económica de la Tilapia

Históricamente la tilapia ha sido una de las especies de peces que más destacan en la nutrición del ser humano, incrementándose su importancia desde principios del siglo XX. Actualmente compite con la carpa (*Cyprinus carpio*) como la especie de pez más cultivada en el mundo (Bardach, 1972; Eknath, 1993). En México, por biomasa, es el tercer producto más importante de las especies dulceacuícolas que son cultivadas; y el cuarto más importante en ganancias económicas, además, en el país se produce aproximadamente un quinto de la producción mundial (Barriga –Sosa, 2004).

En los cultivos de tilapia el principal problema detectado es el hacinamiento de la población, ya que puede ocasionar disminución en la talla y traducirse en pérdidas económicas, por lo que una de las maneras que se ha combatido este crecimiento desmedido y perjudicial, para los productores, es mediante cultivos monosexuales, prefiriendo a los machos sobre las hembras y

se han seleccionado las cepas con este fin. El método más conveniente, por los resultados obtenidos en los cultivos, ha sido el uso de híbridos ínter específicos para conseguir hasta el 100% de machos (un ejemplo de este fenómeno es el mencionado por Bardach (1972) en el cual el producto que se obtiene al aparear un macho de *T. mossambicus* del stock Zanzibar con una hembra de *T. niloticus* del stock del Lago Alberto, la descendencia está compuesta exclusivamente por machos

Área de estudio

Los especímenes utilizados en el presente estudio, fueron recolectados en las cuencas de los ríos San Ignacio, La Purísima, San Javier y San Pedro de la Presa, ubicadas en Baja California Sur (Figura 1).

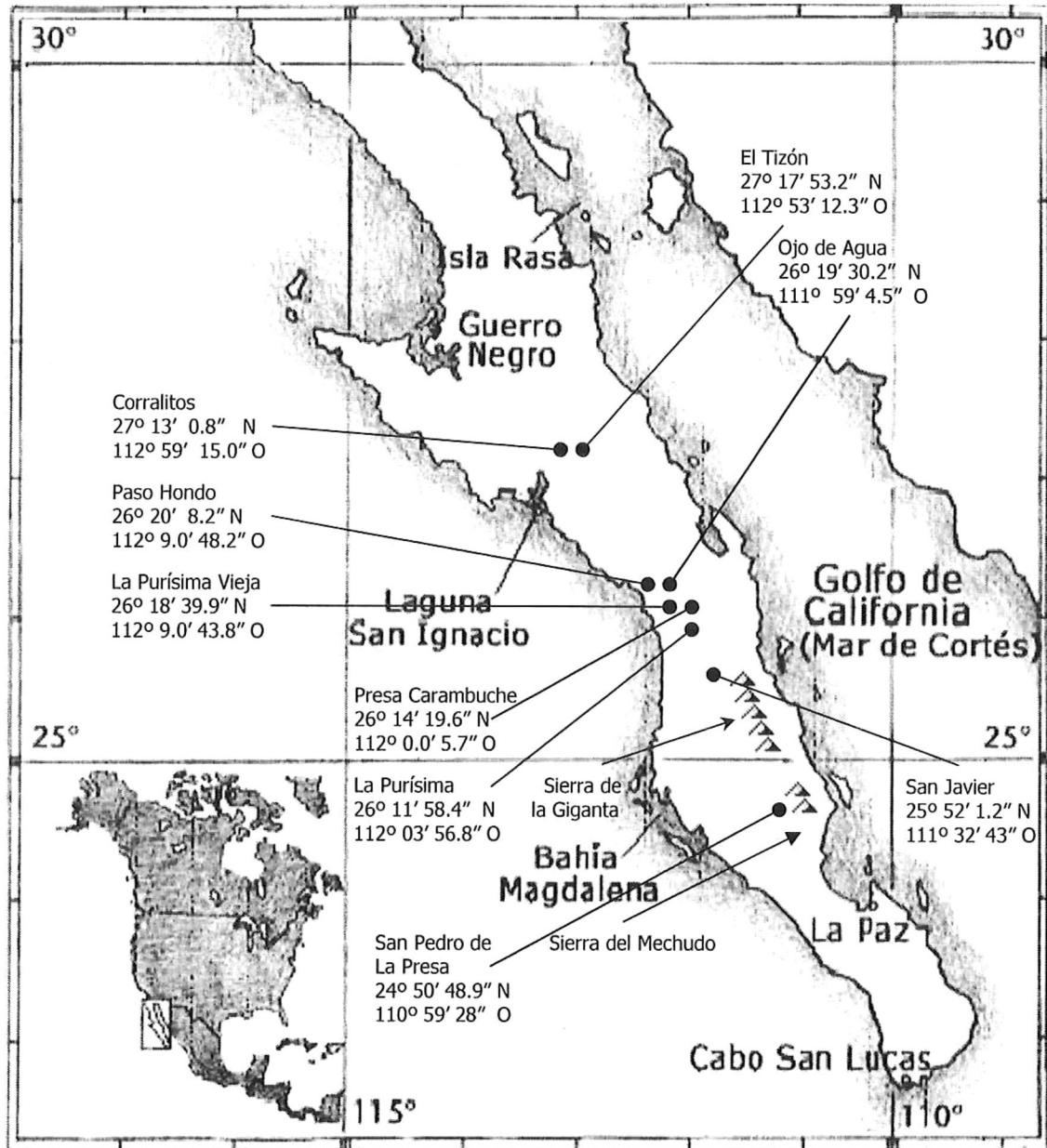


Figura 1. Mapa de distribución de las diferentes poblaciones consideradas en el estudio.

De la orografía de la zona de estudio sobresale en la cuenca de San Javier la influencia de la sierra de La Giganta (INEGI, 1988), que funciona como una barrera biogeográfica y como una contención a las corrientes de aire seco provenientes del golfo de California, cabe señalar que en San Pedro de la Presa, la sierra del Mechudo actúa de forma homóloga (INEGI, 1988).

Según la carta hipsográfica para el estado de Baja California Sur las altitudes para los oasis estudiados comprenden dos categorías, aquellos que se encuentran bajo los 200 msnm y los que se hallan sobre esa altitud y hasta cercanos a los 600 msnm, dentro del primer grupo podemos incluir a los oasis de San Ignacio y a Presa Carambucho y La Purísima, mientras que todos los restantes pertenecen al segundo grupo (INEGI, 1988). Es importante considerar este factor ya que incide en la temperatura de los oasis (Arriaga, 1997).

Clima

A nivel general el clima de Norteamérica está regulado por tres centros de acción: el anticiclón del Pacífico, la depresión de las Aleutianas y el anticiclón del Atlántico. La península de Baja California está influenciada principalmente por los dos primeros centros dinámicos de masas de aire, generando varios regímenes climáticos (Delgadillo, 1995).

Para los oasis básicamente se encontraron dos tipos climáticos diferentes, según Köppen, modificado por García (INEGI, 1988), en la cuenca del Río San Ignacio se presenta BWhw(x')(e) que es muy árido, semicálido, con

lluvias de verano, el porcentaje de lluvia invernal es superior de 10.2 mm y extremo, este mismo se reportó para los oasis de San Javier, Ojo de Agua, La Purísima Vieja y Paso Hondo, mientras que el tipo de clima $BW(h')hw(x')(e)$ es muy árido con régimen de lluvias en verano, y porcentaje de lluvias en invierno mayores a 10.2 y sucede en los demás cuerpos de agua considerados en este trabajo (INEGI, 1988 Arriaga, 1997).

Según Arriaga (op. cit.), las temperaturas ambientales para los oasis fueron de 21.5° C para San Ignacio, 22.8 para La Purísima y Presa Carambucho y de 21.8 en el resto de localidades de la cuenca del Río La Purísima, 22.1 para San Pedro de la Presa y, finalmente, de 20° C en San Javier (INEGI, 1988 Arriaga, 1997).

Debido a la aridez ocasionada por la escasa precipitación y las condiciones del suelo la vegetación dominante es el matorral xerófilo, con especies como el cardón (*Pachycereus pringlei*), yuca (*Yucca valida*), cholla (*Opuntia cholla*), agave (*Agave deserti*), y gobernadora (*Larrea tridentata*). En la parte central de la península, en el municipio de Mulegá, se ubica la reserva de la Biosfera del Vizcaíno, dentro de la cual se encuentran los oasis de San Ignacio, mientras que La Purísima se localiza fuera del límite sur de esa área protegida (Sedesol, 1993; Camarena, 1999).

Fenómenos climatológicos

Los huracanes que afectan directa o indirectamente a nuestro país, tienen cuatro zonas matrices, o de origen, y en ellas aparecen con diferente grado de intensidad, incrementándose esta a medida que progresa la temporada que se extiende desde la última decena de mayo hasta la primera quincena de octubre.

La primera zona matriz es la del golfo de Tehuantepec, que se activa la última semana de mayo. Los meteoros de esta zona nacen en la latitud 15° N, aproximadamente, y por lo general los primeros viajan hacia el oeste, alejándose de costas nacionales, mientras los formados de julio en adelante, de mayor potencia, por lo regular describen una parábola afectando los estados de Nayarit, Sinaloa, Sonora y el extremo sur de la península de Baja California. Esta primera región matriz es tres veces más activa que cualquier otra (Luna 1979).

La temporada de Huracanes de 2003 tuvo dos eventos principales que afectaron el área de estudio, llamados "Isabel" y "Marty"; este último alcanzó la categoría 2 en la escala Saffir-Simpson manteniendo velocidades de 160 y hasta rachas de 195 km/h. Tocó la península el 22 de Septiembre, desencadenando inundaciones en diversas zonas, incluidas las áreas de los oasis (SCT, 2003).

ANTECEDENTES

En 1990 Williams y colaboradores, según Luna (2003), escribieron un ensayo sobre Polimorfismos de ADN de hongos en general, basado en la amplificación al azar de fragmentos de ADN con iniciadores de tamaño pequeño y secuencia arbitraria. A Partir de entonces dicha técnica se reconoce que puede ser utilizada para determinar identidad taxonómica y relaciones de parentesco, detectar flujo genético interespecífico (Enríquez–Paredes, 1999), y analizar al híbrido. Además, puede ser de utilidad para realizar mapeos en cepas bacterianas (Clark, 1993).

Las ventajas de utilizar RAPD´s incluyen la conveniencia para el trabajo sobre genomas anónimos, aplicabilidad para trabajar donde está disponible una cantidad limitada de ADN, con eficacia y bajo costo (Hadrys, *et al.* 1992). Es también útil en individuos cultivados (Karp, *et al.* 1996). La técnica de RAPD´s, adicionalmente, tiene usos en la identificación de las variedades de plantas reproducidas asexualmente, para propósitos forenses o agrícolas, así como los ecológicos (Congiu, *et al.* 2000).

Además una gran ventaja de los RAPD´s es que no requieren ningún conocimiento previo sobre ningún gen particular, o secuencia, dentro del taxón a estudiar. Y pueden ser útiles virtualmente para cualquier especie (Hills, 1996). En 2003, Luna-Martinez utilizó la misma técnica para investigar y caracterizar genéticamente el hongo *Sclerotium cepivorum*.

Para el caso particular de los peces esta metodología fue utilizada por Dinesh *et al.*, (1993) en la detección de polimorfismo en 12 especies, permitiendo obtener resultados de distinción de huellas genéticas y avalándolo como un método importante para el manejo de pesquerías y genética de conservación. Naish (1995) estimó la variabilidad entre dos cepas de tilapia cultivada (*Oreochromis niloticus*) con RAPDs y RAPD/RFLP, encontrando que no había diferencia significativa entre los resultados arrojados entre esas técnicas. Igualmente Appleyard y Mather (2000) utilizaron dicha técnica para el cíclido *Oreochromis mossambicus* (Peters). En México, Barriga-Sosa *et al* (2004) evaluaron la variabilidad de varias especies de tilapia del género *Oreochromis* y mostraron una variabilidad genética alta así como un posible efecto de cuello de botella.

Localmente, en la Universidad Autónoma de Baja California, en el laboratorio de Biología Molecular, en 1999, Enríquez-Paredes utilizó la técnica de RAPD's para evaluar la variabilidad genética del calamar (*Dosidicus gigas*), basándose en las ventajas de potencial de resolución, facilidad para procesar muchas muestras al mismo tiempo y los bajos costos del procedimiento.

La técnica de RAPD's utiliza oligonucleótidos (cebadores de secuencias aleatorias de 8 ó 10 bases), que usualmente tienen un contenido de GC mayor al 50%. Estos iniciadores no contienen secuencias repetidas inversas internas y se pegan a distintos sitios en un genoma, si es que existen diferentes sitios

blanco para ellos. Esta unión es reconocida por la enzima ADN polimerasa (Taq), que comienza la elongación del iniciador; produciendo una cadena de ADN cuya secuencia de bases es complementaria al molde (templete). El producto de la amplificación se acumulará en un gran número de copias y puede ser visualizado por técnicas electroforéticas después de teñirse con bromuro de etidio (Valadez, 2000).

Los resultados pueden ser utilizados para análisis de datos genotípicos, aunque con la reserva del carácter de dominancia que estos tendrán, ya que por las mismas características de la técnica, esta no puede discernir entre marcadores homocigotos y heterocigotos por que para cada fragmento (que puede ser considerado como un *locus*) solamente hay dos opciones, que se exprese (aparezca la banda correspondiente) o que no lo haga (en el caso que no aparezca) presentándose así como un sistema de dos alelos (Isabel, et al, 1999). Esto puede, sin limitar la estimación de las frecuencias alélicas, reducir la precisión con que se podrían evaluar las mismas, si se consideraran marcadores codominantes, como lo son microsatélites, alozimas, o PCR-RLFP (Enríquez-Paredes, 1999).

OBJETIVOS

- * Analizar la variabilidad genética de las poblaciones del pez cíclido *T. cf zilli*, en cuatro cuencas hidrológicas de Baja California Sur, México (San Ignacio, La Purísima, San Javier y San Pedro de la Presa).
- * Establecer las relaciones genealógicas que guardan los organismos y las diferentes poblaciones de la especie *T. cf zilli*, en las cuencas antes referidas.

HIPÓTESIS

- Ho= Todas las poblaciones de *T. cf zilli*, en los oasis de Baja California Sur, proceden de un mismo stock parental.

- Ha= Las poblaciones de *T. cf zilli* proceden de diferentes stocks parentales.

METODOLOGÍA

Muestreo ictiológico

Los ejemplares de *Tilapia cf. zilli* fueron obtenidas entre febrero de 2002 y enero de 2004, en oasis ubicados en las cuencas de los ríos San Ignacio (localidades El Tizón y Los Corralitos), La Purísima (localidades La Purísima, Presa de Carambucho, Paso Hondo, La Purísima Vieja y Ojo de Agua), San Javier (presa de San Javier) y San Pedro (San Pedro de la Presa) (Tabla I).

Para la captura de este pez se utilizaron métodos pasivos (trampas tipo "minnows", red agallera experimental con diferentes luz de malla) y activos (chinchorro de arrastre de 6 m x 1.5 m x 1/8", y atarraya), dependiendo de las características del sitio.

Los ejemplares recién capturados fueron fijados directamente con alcohol etílico puro, o en su defecto mantenidos en hielo seco para su transportación al laboratorio para conservarlos a -75° C en un ultracongelador. Se mantuvieron así hasta su procesamiento en laboratorio.

TABLA I. Localidades de recolecta de *Tilapia cf. zilli* en cuatro cuencas de Baja California Sur, México, indicando el número (N) de ejemplares analizados.

Cuenca	Localidad	N	Fecha de recolecta	Número de Recolecta
San Ignacio	Corralitos	12	22/Septiembre/2003	4
San Ignacio	El Tizón	2	06/Febrero/2002	1
San Ignacio	El Tizón (Manantial)	6	02/0Febrero/2004	5
La Purísima	Ojo de agua	9	27/Octubre/2002	2
La Purísima	Presa Carambuche	7	8/0Febrero/2003	3
La Purísima	La Purísima	3	30/Enero/2004	5
La Purísima	La Purísima vieja	6	31/Enero/2004	5
La Purísima	Paso Hondo	5	31/Enero/2004	5
San Pedro de la Presa	San Pedro de la Presa	13	29/Octubre/2002	2
San Javier	San Javier	12	28/Enero/2004	5
Total 4 cuencas	10 localidades	75	Del 6 de febrero de 2002 al 28 de enero de 2004	5

Procesamiento de las muestras

El protocolo de extracción de ADN utilizado fue una modificación al seguido por Bernardi y Powers (1995), en el cual después de cortar una porción de músculo o aleta (Klett, 2002) en pequeños fragmentos (0.01g.) se digiere (con 613 μ L de amortiguador de lisis -10mM Tris, 400mM NaCl, 2mM Na₂EDTA- 30 μ L de SDS al 20% y 7 μ L de Proteinasa K[®]-Cat. No: 25530-015, lot:1196731-). Posteriormente se precipita el ADN utilizando NaCl (en este punto se redujo la concentración sugerida por estos autores, de 6M a 3M para evitar el exceso de sales en la muestra), lavando a continuación consecutivamente con cloroformo puro y alcohol isopropílico. El producto es resuspendido en amortiguador TE (10mM Tris pH8, 1mM EDTA pH 8) y conservado a -20 °C para su posterior uso.

Una vez obtenido el ADN se evaluó su calidad mediante electroforesis (agarosa 0.8%) y se eligieron muestras por su calidad, con ellas se estandarizó la metodología de RAPD`s; tomando como criterio la reproducibilidad de las bandas y el polimorfismo que presentaban los patrones de bandeo resultantes.

En este proceso fueron seleccionados cuatro oligonucleótidos cebadores (de 10 bases) de la serie comercial Operon-C (OPERON TECHNOLOGIES) -el 11 (5´AAAGCTGCGG´3), 14 (5´TGCGTGCTTG´3), 15 (5´GACGGATCAG´3) y 19 (5´GTTGCCAGCC´3). Se utilizó la mezcla comercial para amplificación (PCRSupermix, Invitrogen[™] -Cat. No:10572-014). Las reacciones se llevaron a

cabo con 22 μ L de PCR Supermix, 1 μ L de cebador, adicionando aproximadamente 0.5 u de Taq polimerasa (1 μ) y 15 ng de ADN de la muestra a amplificar (estimados mediante electroforesis y comparando con patrones) para un volumen de reacción de 25 μ L. Las condiciones [30s-94 °C, 30s-36 °C, 2min-72 °C]₄₅ con una extensión final de 72°C durante 10 minutos (con base en Rabouam, 1999).

Los productos de PCR se evaluaron mediante electroforesis (agarosa 1.4%) en amortiguador TBE (Tris- Borato, 0.089M Tris Borato, 0.089M ácido bórico, 0.002M EDTA pH8) y los fragmentos resultantes se visualizaron con Et Br y un transiluminador de UV, fotografiando el gel para posteriormente digitalizarlo y realizar el conteo de bandas.

Se calcularon las frecuencias de cada loci empleando el paquete estadístico Microsoft Excel para todos los oligonucleótidos cebadores.

Además, se obtuvo el índice de fijación F_{st} (θ P) por ser uno de los métodos más utilizados para describir la estructura genética de las poblaciones (Nagylaki, 1998). Fueron utilizadas dos pruebas de significancia para corroborar la robustez de los resultados, se aplicó el método de remuestreo dentro de los loci (Bootstrap) que estima la varianza de la distribución de las muestras (Hillis, 1996). Asimismo, se aplicó el remuestreo "Jackknife" siguiendo lo sugerido en la literatura para la validación de la significancia de esta técnica (Weir et al, 1984; Weir, 1996).

Las distancias genéticas insesgadas se calcularon con base en el modelo de Nei (1978) y empleando el software TFPGA versión 1.3. Para este análisis se descartaron dos loci que eran autoapomórficos para organismos aislados. Con el mismo programa se construyó un dendrograma UPGMA utilizando las distancias insesgadas de Nei (1978).

Finalmente con la función "Dollop" del software PHYLIP (Phylogeny Inference Package) versión 3.5 se obtuvieron 12 dendrogramas, que fueron consensados utilizando "Consense" de este mismo programa, para encontrar el ordenamiento más parsimonioso de los patrones de bandas.

RESULTADOS

Frecuencia de los loci

Se obtuvieron las tablas de frecuencia sobre la presencia de las bandas (Loci) para cada población de *Tilapia cf. zilli* (ver Apéndice). De los datos sobresale la cercanía en las frecuencias de los patrones de bandas obtenidos en la cuenca del Río la Purísima, principalmente contrastando Ojo de Agua con las demás poblaciones de dicha cuenca. En general, los patrones del Río La Purísima tendieron a parecerse más que entre las pertenecientes a la cuenca de San Ignacio ya que entre Ojo de Agua y La Purísima y La Purísima Vieja se compartieron el 35% y el 28.8% de frecuencias, respectivamente (Tabla 2), además entre Ojo de Agua y Paso Hondo existió el 31% de similitud.

En la cuenca del Río San Ignacio las localidades de El Manantial y el Tizón comparten el 35% de la frecuencia de los loci.

TABLA II. Resumen de los resultados del análisis de las frecuencias de loci compartidos en *Tilapia cf. zilli* de varias localidades de oasis de Baja California Sur, México.

Localidades	Loci con frecuencia compartida	Porcentaje de Frecuencia de loci compartidos
<i>San Ignacio (Cuenca)</i>	2	4.4%
Corralitos/Tizón	2	4.4%
Corralitos /Manantial	4	8.8%
Manantial/Tizón	16	35.5%
<i>La Purísima (Cuenca)</i>	3	6.6%
Presa Carambucho/Paso Hondo	6	13.3%
Presa Carambucho/La Purísima Vieja	5	11.1%
Presa Carambucho/La Purísima	5	11.1%
Presa Carambucho/ Ojo de Agua	8	17.7%
Ojo de Agua/ La Purísima	16	35.5%
Ojo de Agua/La Purísima Vieja	13	28.8%
Ojo de Agua/Paso Hondo	14	31.11%
Ojo de Agua/PasoHondo/ La Purísima Vieja	8	17.7%
Paso Hondo/La Purísima Vieja	15	33.33%
Paso Hondo/ La Purísima	13	28.8%
La Purísima Vieja/La Purísima	11	24.4%
San Javier/San Pedro de la Presa	8	17.7%
San Javier/ Corralitos	3	6.6%
San Pedro de la Presa/ Corralitos	5	11.1%

** Los valores mayores se destacan en negritas.*

Valores de θ (Theta) P

Los resultados obtenidos muestran valores de Theta P de entre 0.4989 (Locus 20) y 0.0298 (locus 10), con un promedio de 0.2981 para todos los loci. Estos resultados fueron semejantes con los que arrojaron las replicaciones secuenciales con la eliminación de los loci, lo cual se asocia con la robustez de los resultados. Cabe señalar que el valor total obtenido a partir del remuestreo (Jackknife) es el mismo obtenido con theta en total, aunque los valores por locus se modifiquen (Tabla 3).

TABLA III. Valores de Theta y Jackknife para los 43 Loci y su promedio, encontrado en las poblaciones de *Tilapia cf. zilli* recolectados entre los años 2002 y 2004

Locus	Theta	Jackknife	Locus	Theta	Jackknife
1	0.48	0.2947	23	0.52	0.2925
2	0.34	0.2968	24	0.61	0.2889
3	0.13	0.3027	25	0.26	0.2987
4	0.48	0.2932	26	0.35	0.2967
5	0.05	0.2993	27	0.33	0.2973
6	0.24	0.2995	28	0.26	0.2986
7	0.15	0.3017	29	0.21	0.3002
8	0.27	0.2988	30	0.35	0.2965
9	0.24	0.2996	31	0.24	0.2993
10	0.29	0.2989	32	0.42	0.2942
11	0.56	0.2932	33	0.09	0.3038
12	0.21	0.3000	34	0.13	0.3028
13	0.37	0.2964	35	0.10	0.3032
14	0.28	0.2982	36	0.09	0.3037
15	0.26	0.2991	37	0.25	0.2994
16	0.33	0.2971	38	0.12	0.3031
17	0.46	0.2930	39	0.21	0.3003
18	0.35	0.2969	40	0.33	0.2970
19	0.36	0.2973	41	0.21	0.3001
20	0.49	0.2920	42	0.48	0.2955
21	0.23	0.2998	43	0.16	0.3014
22	0.35	0.2964	Total	0.2981	0.2981

Por separado, con el procesamiento por "Bootstrap", resulta un valor próximo al 0.2981 obtenido por "Jackknife" y θ_P . Los valores extremos obtenidos fueron de 0.2549 y 0.3427, promediando 0.2988, aunque el software utilizado (TFPGA versión 1.3) no brinda el desglose por locus.

Distancias Genéticas

En cuanto a las distancias genéticas, calculadas por el método insesgado de Nei (1978), con una distancia máxima de 0.5254 entre las poblaciones de La Purísima y El Manantial (cuencas de la Purísima y San Ignacio, respectivamente) y la mínima se da entre Ojo de Agua y Presa Carambucho (cuenca del Río La Purísima) con 0.0715 (Tabla 4).

TABLA IV. Distancias genéticas inesgadas de Nei (1978).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0								
2	0.2344	0							
3	0.2565	0.178	0						
4	0.1854	0.3226	0.344	0					
5	0.1345	0.2007	0.2558	0.0715	0				
6	0.1103	0.23	0.2751	0.1013	0.1165	0			
7	0.1606	0.4355	0.4396	0.1615	0.1728	0.1203	0		
8	0.345	0.3768	0.5254	0.2545	0.2202	0.3303	0.4471	0	
9	0.1575	0.2721	0.3975	0.2292	0.1413	0.1561	0.3282	0.2952	0
10	0.0877	0.2917	0.3647	0.1851	0.1515	0.1207	0.2286	0.2779	0.1213

1. Corralitos, 2 Tizón, 3 Manantial, 4 Ojo de Agua, 5 Presa Carambucho, 6 La Purísima Vieja, 7 Paso Hondo, 8 La Purísima, 9 San Pedro de la Presa y 10 San Javier.

Dendrograma de Parsimonia

En el dendrograma consenso (basado en 12 dendrogramas obtenidos con el programa Phylip 3.5, utilizando la función Dollop) para los 59 genotipos, pueden observarse 3 clados bien diferenciados y robustos, así como un grupo heterogéneo que no está bien definido por su representación gráfica; este último incluye 2 genotipos de Paso Hondo, 2 de San Pedro de la Presa, 1 de Corralitos, 1 de San Javier, todos ellos en un clado y 6 genotipos de Corralitos dispersos.

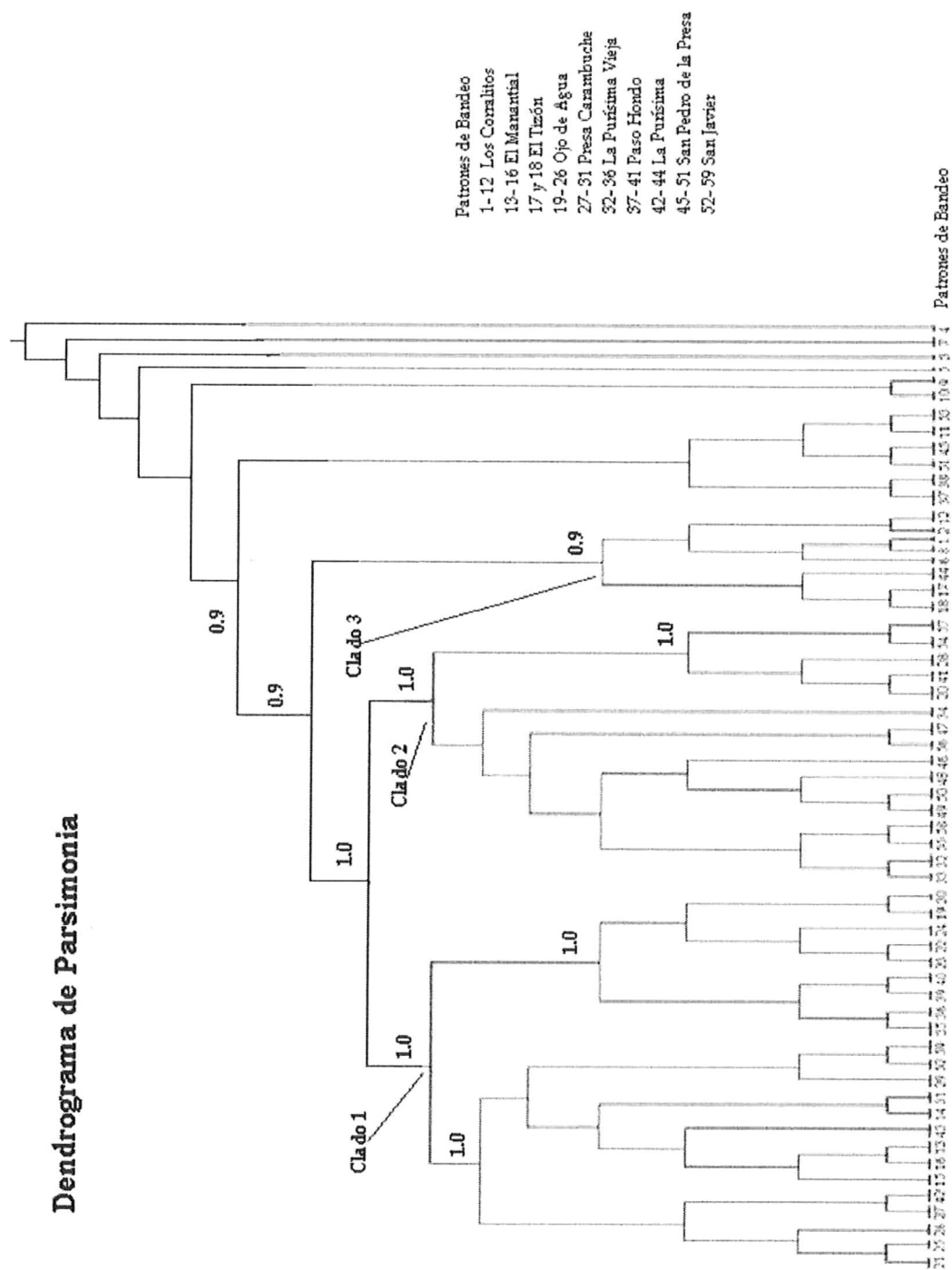


Figura 2. Dendrograma de parsimonia de los diferentes genotipos encontrados en las poblaciones de *Tilapia cf. zilli* de Las cuencas hidrológicas de San Ignacio, La Purísima, San Pedro de La Presa y San Javier. Recolectados entre los años 2002 y 2004.

El primer clado consta de 23 genotipos los cuales se dividen en 2 "subclados", uno que agrupa a 14 genotipos y el otro a 9. En el primero se incluyen genotipos de todas las cuencas con excepción de San Pedro de la Presa, mientras que el segundo solamente agrupa genotipos presentes en la cuenca del Río La Purísima.

El segundo clado agrupa 16 genotipos, y únicamente San Ignacio carece de representación, mientras que las otras 3 cuencas se encuentran aproximadamente en la misma proporción.

El tercer clado es el más pequeño incluyendo solamente a 8 genotipos presentes en 2 de las cuencas, que son San Ignacio y en menor grado La Purísima.

Cabe destacar, sin embargo, que si bien la cuenca de San Ignacio incluyó genotipos en los clados 1 y 3 se diferencian en poblaciones bien definidas, ya que todos los genotipos de la localidad de el Manantial se encuentran en el primer clado mientras que las poblaciones de el Tizón y Corralitos se localizan en el clado 3.

TABLA V. Proporción de genotipos por clado según el dendrograma de parsimonia encontrado en las poblaciones de *Tilapia cf. zilli* recolectados entre los años 2002 y 2004.

Clado	N	La Purísima	San Ignacio	San Pedro	San Javier
1	23	17/23 =0.739	4/23= 0.173	0	2/23= 0.086
1.1	14	8/14=0.571	4/14=.285	0	2/14= 0.142
1.2	9	9/9=1	0	0	0
2	16	6/16=0.375	0	5/16=0.312	5/16=0.312
3	8	1/8= 0.125	7/8=0.875	0	0

Considerando el mismo análisis pero por localidad dentro de cada cuenca tenemos los siguientes resultados:

- En la cuenca de San Ignacio se presenta que los dos genotipos de la localidad del Tizón se encuentran en el mismo clado, compartiéndolo con cinco de Corralitos, mientras que para la localidad del Manantial ésta concentra sus 4 genotipos en el clado 1.
- En la cuenca de La Purísima, las localidades de Ojo de Agua, Presa de Carambuche y Paso Hondo tienen la mayor parte de sus genotipos en el clado 1 y uno más de cada localidad se agrupa en el clado 2. La población de La Purísima tiene representación en dos de los 3 clados, teniendo dos genotipos en el primero y uno más en el tercero. La localidad de la Purísima vieja es la única localidad de la cuenca en que tiene mayor representación en el segundo clado (con 3 genotipos).
- Las cuencas de San Pedro de la Presa y San Javier tienen su mayor representación en el clado 2 y además tienen uno y dos genotipos, respectivamente, fuera de los tres clados principales.

TABLA VI. Distribución de genotipos por localidad dentro del dendrograma de Parsimonia de las poblaciones de *Tilapia cf. zilli* recolectados entre los años 2002 y 2004

Cuenca (Población)	Clado 1 (n)	Clado 2 (n)	Clado 3 (n)	Fuera de Clado (n)	Total de Clados (n total)	Año de recolecta
San Ignacio (Corralitos)	0	0	5	7	2 (12)	2003
San Ignacio (Manantial)	4	0	0	0	1 (4)	2004
San Ignacio (Tizón)	0	0	2	0	1 (2)	2002
La Purísima (Ojo de Agua)	7	1	0	0	2 (8)	2002
La Purísima (Presa Carambuche)	4	1	0	0	2 (5)	2003
La Purísima (La Purísima Vieja)	2	3	0	0	2 (5)	2004
La Purísima (Paso Hondo)	2	1	0	2	3 (5)	2004
La Purísima (<i>Idem</i>)	2	0	1	0	2 (3)	2004
San Pedro de la Presa (<i>Idem</i>)	0	5	0	2	2 (7)	2002
San Javier (<i>Idem</i>)	2	5	0	1	3 (8)	2004

Dendrograma UPGMA

Con el programa TFPGA versión 1.3 se generó un dendrograma mediante el método UPGMA (unweighted pair-group method using an arithmetic average), en el cual se presenta a las poblaciones de la cuenca del Río La Purísima, con la excepción de la localidad. La Purísima en un clado. Corralitos, San Javier y San Pedro de la Presa, son pertenecientes a cuencas diferentes y se les agrupa en otro clado. Las localidades de La Purísima, El Manantial y El Tizón quedan dispersas, aunque las poblaciones de la cuenca del Río San Ignacio permanecen un poco más cerca entre si.

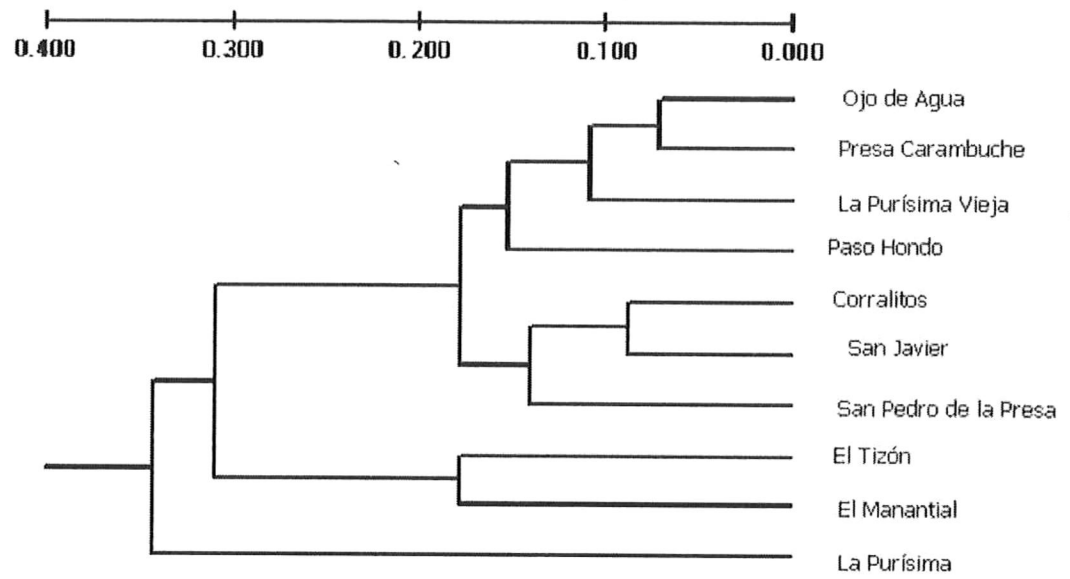


Figura 3. Dendrograma UPGMA basado en las distancias de Nei (1978) de las 10 poblaciones consideradas.

DISCUSIONES

Frecuencia de los loci

En el presente estudio sobre la variabilidad genética de las poblaciones del pez exótico *Tilapia cf zilli* en cuatro cuencas hidrológicas de Baja California Sur, encontramos que, según lo muestran los resultados de las frecuencias de presencia de las bandas obtenidas en la cuenca del Río San Ignacio, el porcentaje de similitud de los datos obtenidos entre El Tizón y El Manantial (que son parte del mismo cuerpo de agua) es del 35%, siendo el valor más alto dentro de todo el estudio.

Los porcentajes de similitud en las frecuencias de los loci de las poblaciones pertenecientes a la cuenca del Río La Purísima posteriores a las crecientes, con respecto a la población de Ojo de Agua (previa a las mismas) se asemejan, ya que Paso Hondo, La Purísima Vieja, y entre ellas, los valores fluctúan alrededor del 31% y en el caso particular de La Purísima alcanza el 35%; es decir, el mismo obtenido en la cuenca del Río San Ignacio para las poblaciones de El Tizón y El Manantial.

A finales de septiembre de 2003 el huracán "Marty" provocó inundaciones en Baja California Sur, incluida la zona de los oasis, resultando que las diferentes localidades se unieran en un solo cuerpo de agua.

En cuanto al efecto antropogénico, los lugareños refieren (comunicación personal) al menos dos siembras de tilapia en la cuenca del Río San Ignacio. La introducción fue en los albores de 1997, a partir de ejemplares procedentes de granjas de cultivo de Sinaloa aunque no se pudo precisar ni las fechas ni los sitios. En las cuencas de la Purísima, San Javier y San Pedro de la Presa, no se

obtuvo información de este tipo. De todo lo anterior podemos sugerir que para el caso de los organismos de la cuenca del Río San Ignacio, éstos pertenecen a dos stocks diferentes, ya que las frecuencias entre las poblaciones de los Corralitos y El Tizón (o el Manantial) no tienen ni siquiera el 10% de similitud.

En cuanto a la cuenca del Río La Purísima podemos asumir que se sembró un stock, posiblemente en Ojo de Agua, ya que esa localidad es la que se asemeja más a las demás poblaciones, alcanzando incluso a compartir con la Purísima el mismo porcentaje que el Manantial y el Tizón (en la cuenca de San Ignacio) que fue del 35%, y tal vez otro stock en La Purísima, ya que en 13 de los 42 loci se aísla uno de los genotipos (ver Apéndice).

Esto es posible ya que una vez introducida la tilapia en un oasis de la cuenca, los vecinos pudieron encargarse de dispersarla, o incluso de manera natural, ya que debido las inundaciones provocadas por los huracanes (como "Marty" en el 2003) todas las localidades de la cuenca de La Purísima se unen, pudiendo permitir así la colonización de nuevos oasis, aunque *Tilapia cf zilli* se haya introducido solamente en uno de ellos. La presencia de tilapias post-evento de inundación en sitios donde anteriormente no se habían capturado (vg. Las localidades de Poza Larga y San Sabas en la cuenca del Río San Ignacio), es un testimonio de su dispersión por efecto de las corrientes (Ruiz-Campos et al., en prep.).

En cuanto a las cuencas de San Javier y San Pedro de la Presa podemos considerarlas también como descendientes de un mismo stock, aunque no puedan unirse por causas naturales.

Valores de Theta "P"

Los valores de Theta evalúan la extensión de la diferenciación entre poblaciones, en la sección de resultados se comentó que los datos obtenidos

fueron consistentes contrastándolos con los valores de las replicaciones secuenciales con eliminación de los loci (Jackknifing), ya que el valor fue idéntico. Comparando los valores obtenidos en este trabajo con los disponibles en la literatura para los organismos de este género, resultaron bajos, ya que Barriga-Sosa (2004) asigna un valor promedio de θ_P de 0.5473 y sus resultados oscilan entre 0.5883 y 0.4618, mientras que los presentados en este trabajo tienen un valor promedio de 0.2981. Por tanto, las cifras obtenidas muestran una baja diversidad genética relativa con respecto a la investigación antes mencionada; sin embargo cabe aclarar que en el trabajo de Barriga-Sosa (2004), se propuso una situación extrema ya que, como ellos mismos lo mencionan, en una de las localidades en que trabajaron (Lago Metztitlán) la reciente introducción y las resiembras sucesivas de al menos dos stocks (los Amates y Zacatepec) podían estar favoreciendo el incremento de la variabilidad genética.

Ahora bien, si el valor de Theta P resultó relativamente bajo, puede estar sugiriendo que no hay tanta diversidad entre las poblaciones, probablemente asociado al uso de un número reducido de stocks, siendo al menos dos en la cuenca del Río San Ignacio y posiblemente uno en la cuenca del Río La Purísima y otro más en las cuencas de los ríos San Javier y San Pedro de la Presa.

Distancias genéticas

Las distancias génicas de Nei pretenden valorar el número de sustituciones en los locus después de la divergencia entre dos poblaciones (Hills, 1996),

Entre las poblaciones de la cuenca del Río San Ignacio tuvieron un promedio de 0.2454, que resulta bajo si lo comparamos con las distancias inferiores a 0.2 de la cuenca del Río La Purísima, aunque si eliminamos la localidad de Corralitos, El Tizón y El Manantial incrementan su afinidad a 0.178, además de tener las dos a Paso Hondo como la localidad más lejana.

En el Río La Purísima todas las poblaciones, presentan a la localidad de El Manantial como la población más lejana, esto es relevante por que sugiere que los organismos de estas dos cuencas provienen de stocks diferentes.

Las poblaciones de San Pedro de la Presa, Corralitos y San Javier aparecen relacionadas, y de hecho, las dos últimas presentan la segunda menor distancia que existe entre cualquier otro par de poblaciones (únicamente Ojo de Agua y Presa Carambucho están más cerca entre si), por lo que suponemos la existencia de un tercer stock que esté representado en tres de las cuatro cuencas estudiadas.

Distancias genéticas

Las distancias génicas de Nei pretenden valorar el número de sustituciones en los locus después de la divergencia entre dos poblaciones (Hills, 1996),

Entre las poblaciones de la cuenca del Río San Ignacio tuvieron un promedio de 0.2454, que resulta bajo si lo comparamos con las distancias inferiores a 0.2 de la cuenca del Río La Purísima, aunque si eliminamos la localidad de Corralitos, El Tizón y El Manantial incrementan su afinidad a 0.178, además de tener las dos a Paso Hondo como la localidad más lejana.

En el Río La Purísima todas las poblaciones, presentan a la localidad de El Manantial como la población más lejana, esto es relevante por que sugiere que los organismos de estas dos cuencas provienen de stocks diferentes.

Las poblaciones de San Pedro de la Presa, Corralitos y San Javier aparecen relacionadas, y de hecho, las dos últimas presentan la segunda menor distancia que existe entre cualquier otro par de poblaciones (únicamente Ojo de Agua y Presa Carambucho están más cerca entre si), por lo que suponemos la existencia de un tercer stock que esté representado en tres de las cuatro cuencas estudiadas.

Dendrograma de Parsimonia

Al estar los clados tan sólidamente establecidos (la mayoría con el 100% de consenso entre los dendrogramas más parsimoniosos) podemos asumir que cada clado puede representar un evento de introducción, lote, cepa o línea de tilapia. Lo anterior concuerda con las proporciones tan disímiles de genotipos correspondientes a cada población.

Hacemos notar, sin embargo, la gran cantidad de genotipos presentes en el dendrograma (59 en total), que, por si sola, esta abundancia sugiere variabilidad genética amplia; sin embargo haciendo una revisión de las características de la técnica de RAPD's podemos comentar que una de las problemáticas para las cuales se emplea comúnmente es la de identificación individual (Parker *et al.*, 1998).

En este trabajo el resultado fue precisamente la separación a nivel individual de todos los organismos, aunque en ocasiones la diferencia consistía únicamente en la presencia o la ausencia de una sola banda en el gel (un solo locus). Generando grupos de organismos con genotipos muy parecidos, pero no idénticos.

Considerando esta aclaración podemos comentar que en el grupo 1 (primer clado) la localidad La Purísima tiene el 74% de los genotipos, esto sugiere que la introducción se realizó en La Purísima y posiblemente de ahí se le

dispersó paulatinamente a través de la entidad estatal, pero sin llegar a San Pedro de la Presa.

En el grupo 2 (segundo clado) existe un equilibrio en el porcentaje observado en cada cuenca, ya que La Purísima, San Pedro de la Presa y San Javier contribuyen aproximadamente con el 30% de los genotipos cada una; sin embargo San Ignacio no tiene ningún genotipo en este grupo, lo cual sugiere que este stock tuvo una dispersión de sur a norte (posiblemente, relacionado con las carreteras pavimentadas), pero que no alcanzó a ser introducido en San Ignacio.

El tercer clado (grupo 3) está compuesto casi en su totalidad por genotipos de San Ignacio (de El Tizón o de Corralitos), únicamente la localidad de La Purísima contribuye, pero lo hace apenas con un 13%, lo que sugiere una siembra de Norte a Sur.

Sin embargo, cabe destacar la heterogeneidad de los genotipos de la población de La Purísima, ya que se encuentran esparcidos en los clados 1 y 3. Lo mismo puede decirse de los genotipos de las poblaciones de Ojo de Agua, Paso Hondo, Presa Carambucho y La Purísima Vieja que aparecen en los clados 1 y 2. Esto pudiera indicar resiembras de los mismos stocks en más de una localidad o inclusive en otras cuencas.

San Javier presenta un genotipo fuera de los clados referidos anteriormente y Los Corralitos seis genotipos aislados de los tres grupos

(clados) considerados en el dendrograma y a su vez aislados entre sí, para este grupo podemos asumir que las variaciones ambientales o los eventos de huracán, con las consiguientes inundaciones con todas sus implicaciones (como son mortandad de individuos, cambios en las características fisicoquímicas de los cuerpos de agua, migración, cambios en la cantidad y calidad de los nutrientes, modificación en el sedimento y en la forma de los cuerpos de agua) favorecieron la diferenciación genotípica en ese lugar (Mac Donald, 2003).

Dendrograma UPGMA

Como los dendrogramas UPGMA se realizan considerando las distancias medias entre los miembros de los grupos (Weir, 1996) podemos asumir que las distancias que arrojen estos serán significativas, así, aunque existan diferentes genotipos en una población la distancia que se considerará será la media aritmética entre las distancias de las poblaciones.

Para el caso particular de este estudio, en un solo clado se agruparon todas las poblaciones de la cuenca del Río La Purísima, exceptuando la localidad de La Purísima.

San Javier, San Pedro de la Presa y Los Corralitos se colocan en un clado diferente, pese a ser localidades de cuencas distintas. Las dos poblaciones restantes de la cuenca del Río San Ignacio (El Manantial y El Tizón) son agrupadas en un clado pero las dos localidades quedan prácticamente tan alejadas como lo están los dos grupos (clados) antes descritos.

Estos resultados se entienden fácilmente luego de haber considerado el dendrograma de parsimonia, ya que ahí la cuenca de La Purísima, por ejemplo, se ve representada de manera importante en dos de los clados, tendiendo a mantener los genotipos cercanos, aunque existen algunos que están relativamente alejados del resto.

La población de La Purísima es la excepción, posiblemente, debido a su "n" tan reducida (tres genotipos), ya que, la media aritmética que se emplea es un indicador sensible a valores extremos, por que si se tienen todos los genotipos más o menos similares y uno muy diferente, al promediar parecerá que los genotipos están más lejos, cuando, en realidad, es solamente un dato el que se aleja, y esto será más evidente si el "n" es reducido, como es el caso para este trabajo.

Podemos sugerir algo similar para el clado que agrupa las localidades de San Javier, San Pedro de la Presa y a Corralitos, ya que sus genotipos medios pueden tender a parecerse; sobre todo si consideramos que en el dendrograma de parsimonia las poblaciones de San Pedro de la Presa y San Javier se agrupan principalmente en los mismos grupos (clados).

Implicaciones

Para la cuenca del Río San Ignacio, en la sección de frecuencias alélicas, sugerimos la presencia de 2 stocks que se han ido dispersando, éstos pertenecen a la localidad del Tizón y El Manantial, por un lado, y por el otro a los Corralitos, esto se sustenta además con las distancias genéticas insesgadas de Nei y el dendrograma UPGMA, sin embargo, el resultado del dendrograma de parsimonia incluye a las poblaciones de El Tizón y los Corralitos juntos en el tercer clado, mientras que a los genotipos del Manantial los sitúa agrupados con los pertenecientes a la cuenca del Río La Purísima, en el primer clado.

Una explicación viable del por qué se obtuvieron estos resultados en el cuerpo de agua El Tizón-Manantial puede desprenderse del número de muestras del año 2002 (únicamente 2), que posiblemente no son suficientes para mostrar la diversidad de la localidad en ese año. Aunque desconocemos el tamaño real de la población, en esa localidad se han observado tilapias melánicas y albinas (amelánicas), después del evento de huracán "Marty", además de los dos stocks evidentes en este trabajo. No podemos, con la información obtenida con cebadores aleatorios (RAPD's) y sin los genotipos de esos organismos visualmente tan llamativos (melánicos y amelánicos), desprender alguna explicación sólida con la cual consensuamos toda la información que se tiene sobre el manantial en sí (el cuerpo de agua físicamente), los diferentes fenómenos que están interviniendo a nivel ecológico (disminución de talla por el

crecimiento poblacional, por ejemplo), a nivel genético (por la posibilidad de tener varios stocks que sean híbridos o no homogéneos) y los eventos catastróficos como los huracanes. Obviamente una explicación de todos estos factores excede los alcances de este análisis exploratorio.

Para la cuenca del Río La Purísima se destacan similitudes en cuanto a frecuencias alélicas y las distancias genéticas que sugieren la presencia de un stock común en todas las poblaciones y mediante el dendrograma de parsimonia se presume que puede existir otro stock adicional, que también queda de manifiesto con el dendrograma UPGMA.

San Pedro de la Presa y San Javier presentan el mismo grado de similitud que el que presentan Presa de Carambucho y Ojo de Agua, esto en cuanto a frecuencias, y en los dos dendrogramas presentados se les agrupa juntos, o al menos cerca, por lo que parece lógico aceptar un mismo stock que se ha ido diversificando, las distancias insesgadas de Nei también apoyan esta deducción hacia el origen común de las poblaciones dentro de esas dos cuencas.

En cuanto a los genotipos ubicados fuera de los tres clados principales en el dendrograma de parsimonia; es conveniente retomar algunos aspectos mencionados en la introducción, como son: el hecho de que el género ha sido manipulado genéticamente por años, por los acuicultores, al seleccionar el sexo de los individuos en los lotes de cultivo y formando, para esto, híbridos entre las

diferentes especies y géneros; además de los efectos de los huracanes que provocan inundaciones en las cuencas y la eventual unión temporal de las localidades así como la introducción de varios stocks.

De estas ideas se desprende la posibilidad de tres lotes de organismos introducidos, uno en la cuenca del Río San Ignacio (y posiblemente en la localidad de la Purísima), otro en la cuenca del Río La Purísima que relaciona a todas las poblaciones (y también incluye al Manantial), y otro más que engloba a las cuencas de San Pedro de la Presa y San Javier.

Considerando todo lo anterior resulta apropiado pensar con miras al futuro de las poblaciones de *T. cf zilli*, sopesando el decaimiento demográfico de la especie endémica *Fundulus lima* y pensando en las características de alta tolerancia a los factores externos como son temperatura, salinidad, oxígeno disuelto etc. De todos los tilapínidos (Pullin, 1982; Bardach, 1972; Anónimo, 1986,) así como su comportamiento reproductivo, su ciclo de vida corto que le brinda la posibilidad de reproducirse varias veces por año y su dieta de amplio espectro (Anónimo, 1986; Bardach, 1972; Halver, 2002; Pullin, 1982), todo hace suponer que las poblaciones de este pez exótico permanecerán en los oasis de Baja California Sur, desplazando, posiblemente, a *Fundulus lima*, sin embargo falta más investigación sobre las dos especies en lo que tiene que ver con sus

interacciones tróficas, uso de hábitat y dinámica poblacional a mediano y largo plazo.

CONCLUSIONES

1. El análisis de las frecuencias alélicas muestra la presencia de al menos dos stocks en la cuenca de San Ignacio y sugiere dos para la cuenca de La Purísima, así como uno para las cuencas de San Javier y San Pedro de la presa.
2. Los valores de Theta P indican que no hay tanta variación entre las poblaciones, es decir, que hay similitudes en las poblaciones de las diferentes cuencas.
3. Las distancias genéticas sin sesgo, de Nei, apuntan hacia la presencia de un stock en la mayoría de las poblaciones en la cuenca del Río La Purísima, además de otro en la localidad de la Purísima, mientras que en aquella del Río San Ignacio se evidencia la presencia de al menos dos stocks.
4. El dendrograma de parsimonia denota la presencia de tres stocks, uno mayoritariamente en La Purísima y el Manantial, otro más en Los Corralitos y La localidad de la Purísima, y un tercero en las cuencas de los ríos San Javier y San Pedro de La Presa.
5. El dendrograma UPGMA muestra dos stocks diferentes tanto para cuenca del Río. La Purísima como para la cuenca del Río San Ignacio.
6. Las conclusiones mencionadas demuestran la inexistencia de un stock parental común a todas las poblaciones, y sugieren que mínimamente

existen tres stocks en las poblaciones de *Tilapia* cf. *zilli* de Baja California Sur.

RECOMENDACIONES

Debido a la evidencia presentada parece necesaria la realización de un análisis de viabilidad de explotación de la especie exótica *T. cf. zilli* y, con base en éste, diseñar un plan de manejo para proteger a la especie endémica *Fundulus lima*, mientras se obtiene algún beneficio económico de la presencia del cíclido introducido.

Colateralmente, estas medidas deben ser acompañadas con programas de erradicación ó control de *T. cf. zilli* en los diferentes oasis, utilizando técnicas de extracción repetida o de agotamiento.

LITERATURA CITADA

- Anónimo. 1986. Piscicultura de agua dulce. Secretaría de Pesca. México D.F. 461pp.
- Appleyard, S.A., PB Mather. 2000. Investigation into the mode of inheritance of allozyme and Random Amplified Polimorphic DNA markers in tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters).
- Arreguin-Espinosa J., Uribe-Alcocer M. 1988. Los cromosomas de los peces *Oreochromis urolepis hornorium* y *Oreochromis mossambicus* (Pises: Cichlidae). Anales del instituto de ciencias del mar y limnología. No. 657 UNAM.
- Arriaga, L. Rodríguez, R. 1997. Los Oasis de la Península de baja California. Centro de investigaciones del Noroeste. La Paz, BCS. México. 292pp.
- Ayala, F.J., Kiger J. 1984. Genética moderna. Fondo educativo interamericano. Barcelona, España. 830pp.
- Barriga-Sosa I.D. et al. 2004 Variability of Tilapias (*Oreochromis ssp*) introduced in Mexico: Morphometric, meristic and genetic characters. J,Appl. Ichtyol. 20:7-4.
- Bardach. J.E. *et al.* 1972. Aquaculture: The Farming and Husbandry of freshwater and Marine Organisms. Willey-Interscience. EUA. 868pp.

- 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* 2:469-473.
- Camarena, F. 1999. Relaciones filogeográficas entre especies y subespecies de *Fundulus* (pisces: Fundulidae) de la Península de Baja California México. Tesis Doctoral. Facultad de ciencias marinas. UABC. 87pp.
- Clark, A., Lanigan, C. 1993. Prospects for estimating nucleotide divergence with RAPDs. *Mol. Biol. Evol.* 10(5):1096-1111.
- Congiu, L., Chicca, M., Cella, R., Rossi, R., Bernacchia, G. 2000. The Use of RAPD markers to identify strawberry varieties: a forensic application *Molecular Ecology* 9 :229-232.
- Contreras-Balderas, S., M.A. Escalante, Distribution and known impacts of exotic species in Mexico. Capítulo 6, en: *Distribution, Biology and Management of exotic Fishes*. Courtenay Jr., W.R. Stauffer, J.R. Stauffer, Eds. J. Hopkins University Press. 1984. Tomado de: *Nonindigenous Freshwater Organisms. Vectors, Biology and impacts*. Claudi R., J.H. Leach. Lewis Publishers. 1999. Capítulo 2, 33-54 p.
- Delgadillo. J. 1995. Introducción al conocimiento bioclimático, fitogeográfico y fitosociológico del suroeste de Norteamérica. Alcalá de Henares. Memoria para optar al grado de Doctor. 566pp.

- Dinesh, K.R., Lim T.M., Chua K. L., Chan W.K., y Phang V.P.E. 1993. RAPD analysis: An Efficient Method of DNA Fingerprinting in Fishes. *Zoological Science* 10:849-854.
- Eknath, A.E., Tayamen, M.M., Palada-de Vera, M.S., Danting, J.C., Reyes, R.A., Dionisio, E.E., Capili, J.B., Bolivar, H.L., Abella, T.A., Circa, A.V., Benstein, H.B., Gjerde, B., Gjedrem, T. and Pullin, R.S.V., 1993. Genetic improvement of farmed tilapias: The growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different faro environments. *Aquaculture*, 111:171-178.
- Enríquez-Paredes L. 1999. Estructura genética de las agregaciones de Calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en el Golfo de California México. Tesis de Maestría. UABC. Facultad de Ciencias Marinas. 85pp.
- Eschmeyer, W.N. 1998. Catalog of fishes. California Academy of sciences. Parte II. 1821-2905. Anaheim, California.
- Fitzsimmons K., 2000 Tilapia aquaculture in Mexico, Costa-Pierce y Je Rakocy Eds. *Tilapia aquaculture in the Americas* 2: 171-183
- Hadrys, H., Balick, M., Schierwater, B. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular Ecology. *Molecular ecology* 1: 55-63.
- Halver J.E. Hardy, R. 2002. *Fish Nutrition* 3rd edition. Academic Press. USA. 824pp.

- Hillis D.M., Moritz C., Mable B.A. 1996. Molecular systematics. Segunda edición. Sinauer Associates Inc. EUA.655pp.
- INEGI. 1988. Atlas nacional del Medio Físico. INEGI. Primera reimpresión. Aguascalientes, México. 224pp.
- Isabel N. et al. 1999. Direct evidence for biased gene diversity estimates from dominant random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints. *Molecular Ecology* 8,477-483.
- Karp, A., Seberg,O., Buiatti,M. 1996. Molecular techniques in the assessment of botanical diversity. *Annals of botany* 78:143-149.
- Klett V. A. Meyer, 2002. *Molecular Biology and Evolution* 19:865-883
- Lagler K.F. J.Bardach, R.Miller,D. May Pasino. 1990. Ictiología. Editorial AGT. México 489pp.
- Luna-Martinez F. *et al.* 2003. Caracterización molecular de aislados de *Sclerotium cepivorum* mediante análisis de polimorfismo de los fragmentos amplificados al azar. *Elementos ciencia y tecnología* 49 (10) : 53-59.
- Luna C. 1979. Atlas de huracanes en el océano pacífico y en océano atlántico. 2^{da} edición. Secretaría de Programación y presupuesto. México DF. 49pp.
- Mac Donald, G. 2003, Biogeography. Space, Time and life. John Willey y Sons, EU. 518pp.

- Nagyaki, T. 1998. Fixation indices in subdivided populations. *Genetics*. 148:1325-1332.
- Naish K.A. et al. 1995. Use of fingerprinting, RAPD and RAPD/RFLP markers for estimating variability between aquacultural strains of *Tilapia (Oreochromis niloticus)* *Aquaculture*. 137:45-56.
- Nei, M. 1978. Estimating of average heterozygosity and distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Parker P. et al. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*. 79(2). 1998. pp 361-382 por Ecological society of America.
- Partis L., R.J.Wells 1996. Identification of fish species using Random amplified polymorphic DNA. *molecular and cellular probes*, 10, 435-441.
- Pullin, R.S.V. Rowe-McConnell R.H. 1982. *The Biology and culture of Tilapias*. International center for living aquatic resources management. Manila, Filipinas. 432pp.
- Rabouam, C.; A. M. Comes; V. Bretagnolle; J. F. Humbert; G. Periquets y Y. Bigots. 1999. Features of DNA fragments obtained by random amplified polymorphic DNA (RAPD) assays. *Molecular Ecology*. 8, 493-503.
- Robins, R.C. et al. 1991. *World Fishes Important to North Americans*. American Fisheries Society. Maryland. EUA. 243pp.

- Ruiz-Campos, G., S. Contreras-Balderas, Ecological and Zoogeographical Check-list of the Continental Fishes of the Baja California Peninsula, México. Desert Fishes Council, Proceed. XVII: 105-117. 1985. Tomado de: Nonindigenous Freshwater Organisms. Vectors, Biology and impacts. Claudi R., J.H. Leach. Lewis Publishers. 1999. Capítulo 2 , 33-54 p.
- Ruiz-Campos, G. 2000. Threatened fishes of the world: *Fundulus lima* Vaillant, 1894 (Fundulidae). Environmental Biology of Fishes, 59(1): 20.
- Ruiz-Campos, G., J.L. Castro-Aguirre, S. Contreras-Balderas, M.L. Lozano-Vilano, A.F. González, y S. Sánchez-González. 2002. An annotated distribution checklist of the freshwater fishes from Baja California Sur, México. Reviews in Fish Biology and Fisheries 12: 143-155.
- Ruiz-Campos, G., F. Camarena-Rosales, S. Contreras-Balderas, Claudia Alejandra Reyes-Valdez, José De La Cruz-Agüero, y Elías Torres-Balcazar. 2004. Ecological and populational status of the endemic desert killifish *Fundulus lima* Vaillant, 1894 (Cyprinodontiformes: Fundulidae) in two hydrological basins of the peninsula of Baja California, México. (manuscrito sometido a Ecology of Freshwater Fish).
- Sandoval- Gonzalez C.A. 1984. Cultivo experimental de *Tilapia zilli* en un sistema semicerrado intensivo, en el campo geotérmico de Cerro Prieto, Baja California. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. UABC. 58 pp.

Sector Comunicaciones y Trasportes. Derrotero meteorológico: Boletines/avisos.
Lunes 22 de Septiembre 2003.

Secretaría de Desarrollo Social. 1993. Áreas naturales protegidas de México.
Sedesol. México D.F. 216pp.

Valadez, E. Kahl. G. 2000. Huellas de ADN en genomas de plantas. Mundi
prensa. México D.F. 147pp.

Villa-Andrade M.F. 1988. Insecticidas organoclorados en peces Tilapia sp y
Cyprinus carpio del valle de Mexicali Baja California. Tesis de licenciatura.
Facultad de Ciencias Marinas. UABC.47pp.

Weir B., C. Cockerham, 1984, Estimating F-Statistics for the analysis of
population structure. Evolution. Vol 38. 6:1358-1370.

Weir, B. 1996. Genetic data analysis II. Sinahuer. Canadá. 445pp.

Welcomme, R.L., Internacional introductions of inland aquatic species. FAO
Fisheries Technical Paper 294:1-318. 1988. Tomado de: Nonindigenous
Freshwater Organisms. Vectors, Biology and impacts. Claudi R., J.H.
Leach. Lewis Publishers. 1999. Capítulo 2 , 33-54 p.

<http://www.oceanoasis.org/teachersguide/a1-bajamap-sp.html>

APÉNDICE***Frecuencias alélicas*****Tabla VII.** Frecuencias de los loci 1-6

	1	2	3	4	5	6
Corralitos	0.08333333	0.58333333	0.66666667	0.33333333	0	0.91666667
Manantial	1	1	0.75	0	0	0.25
Tizón	0	0.5	1	0	0	0.5
Ojo de Agua	0.6	0.8	0.6	0.2	0	1
Presa						
Carambucho	0.12	0.16	0.12	0.04	0	0.2
La Purísima Vieja	0	0.4	0.4	0.6	0.4	0.6
Paso Hondo	0.4	0.6	0.6	0.4	0	0.8
La Purísima	0.66666667	1	1	0	0	1
San Pedro de la						
presa	0	0	0.42857143	1	0.14285714	1
San Javier	0	0.25	0.625	0.625	0.375	0.875

Tabla VIII. Frecuencias de los Loci 7-12

	7	8	9	10	11	12
Corralitos	0.41666667	0.16666667	0	0.41666667	0.08333333	0.16666667
Manantial	0.25	0	0	0.25	0	0
Tizón	0.5	0.5	0	0.5	0	0.5
Ojo de Agua	0.8	0.4	0	0.8	0	0
Presa						
Carambucho	0.16	0.08	0	0.16	0	0
La Purísima Vieja	0.4	0.4	0	0.8	0	0
Paso Hondo	0	0.4	0	0.8	0	0
La Purísima	1	1	0	1	0	0
San Pedro de la						
Presa	0.57142857	0.85714286	0	0.57142857	0	0
San Javier	0.375	0.75	0.125	0.75	0	0

Tabla IX. Frecuencias en los Loci 13-18

	13	14	15	16	17	18
Corralitos	0.83333333	0	0.08333333	0.83333333	0.66666667	0.66666667
Manantial	1	0.25	0.25	0.25	1	1
Tizón	1	0.5	0	0.5	1	1
Ojo de Agua	1	0.6	0.8	0.6	0.4	0.6
Presa Carambuche	0.2	0.12	0.16	0.12	0.08	0.12
La Purísima Vieja	1	0.2	0	0	0.6	0.6
Paso Hondo	1	0.6	0	0	0.6	0
La Purísima	1	0.66666667	0	0	0.66666667	0.66666667
San Pedro de la Presa	0.42857143	0.14285714	0.85714286	0	0.28571429	0.28571429
San Javier	1	0.875	0.75	0.125	0.125	0.25

Tabla X. Frecuencias de los Loci 19-24.

	19	20	21	22	23	24
Corralitos	0.58333333	0.58333333	0.5	0.91666667	0.91666667	0.91666667
Manantial	0	0	0	0	0	0.5
Tizón	1	0.5	1	0.5	0.5	0.5
Ojo de Agua	1	0.4	0	0.4	0.8	0.6
Presa Carambucho	0.2	0.08	0	0.08	0.16	0.12
La Purísima Vieja	0.8	0	0	0	0.6	0.6
Paso Hondo	1	1	0.4	0	1	0.4
La Purísima	0.66666667	0.66666667	0.33333333	0.66666667	0.66666667	1
San Pedro de la						
Presa	0.42857143	0	0	1	0.28571429	0.42857143
San Javier	0.75	0.25	0	1	0.5	1

Tabla XI. Frecuencias de los Loci 25-30.

	25	26	27	28	29	30
Corralitos	1	0.91666667	0.16666667	0.58333333	0.66666667	0.25
Manantial	0.75	0	0	0	0	0
Tizón	0.5	0	0	0	0	0
Ojo de Agua	0.4	0.8	0.4	0.6	0.4	0
Presa Carambucho	0.08	0.16	0.08	0.12	0.08	0
La Purísima Vieja	1	1	0.6	0.6	0.6	0.6
Paso Hondo	1	1	1	1	1	0
La Purísima	1	0.33333333	0	0	0	1
San Pedro de la Presa	1	0.28571429	0.42857143	0.14285714	0	0.28571429
San Javier	1	1	0.5	0	0.375	0.25

Tabla XII. Frecuencias de los loci 31-36.

	31	32	33	34	35	36
Corralitos	0.16666667	0.5	0.25	0.16666667	0.83333333	0.66666667
Manantial	0.75	1	0.25	0.75	0.75	0.75
Tizón	1	1	0	0	1	1
Ojo de Agua	0.4	1	0	1	0.8	0.8
Presa						
Carambuche	0.08	0.2	0	0.2	0.16	0.16
La Purísima Vieja	0.8	0.6	0.4	1	0.4	1
Paso Hondo	0.6	0.8	0.4	0.8	0.8	0.8
La Purísima	1	1	1	1	0	0.66666667
San Pedro de la						
Presa	0.57142857	1	0.57142857	0.85714286	0.57142857	0.57142857
San Javier	0.125	0.75	0.5	0.5	0.5	0.75

Tabla XIII. Frecuencias de los Loci 37-42.

	37	38	39	40	41	42
Corralitos	0.66666667	0.91666667	0.83333333	0.75	0.91666667	0.58333333
Manantial	0.5	0.5	0	0.75	0.25	0.25
Tizón	0	0.5	0.5	1	0	0
Ojo de Agua	0.6	0.6	0.6	1	1	1
Presa						
Carambucho	0.12	0.12	0.12	0.2	0.2	0.2
La Purísima Vieja	0	0.6	0.6	0.8	0.6	0.6
Paso Hondo	0.2	1	0.4	0.6	1	0.8
La Purísima	1	1	0.33333333	1	1	1
San Pedro de la						
Presa	0.71428571	0.71428571	0.71428571	1	1	0.57142857
San Javier	0.5	0.875	0.125	0.625	0.875	0.75

Tabla XIV. Frecuencias de los Loci 43- 45

	43	44	45
Corralitos	0.83333333	1	0.91666667
Manantial	0.25	0.5	0.5
Tizón	1	0.5	1
Ojo de Agua	0	1	1
Presa			
Carambucho	0	0.2	0.2
La Purísima Vieja	0.2	1	1
Paso Hondo	0.4	1	1
La Purísima	0	1	0.66666667
San Pedro de la			
Presa	0.14285714	1	1
San Javier	0.125	0.875	0.875

Escala Saffir-Simpson

Desarrollada por los científicos estadounidenses Herberth Saffir y Robert Simpson, es la forma más aceptada para "categorizar" los huracanes y sirve para estimar la cantidad de daños que puede producir.

Escala 1

- Considerables daños a vegetación, árboles, follaje, viviendas sin cimientos y señalamientos mal construidos
- Inundaciones en zonas costeras bajas y daños menores en muelles. Probablemente algunas embarcaciones pequeñas se sueltan de sus amarras
- Vientos sostenidos: 118 - 152 kph
- Marejadas: 1.20 - 1.50 m



Escala 2

- Caída de árboles, considerables daños en los techos de los edificios, ventanas y puertas
- Zonas costeras y rutas de escape cerradas por el aumento del nivel del agua 2 ó 4 horas antes del paso del ojo huracán
- Daños considerables a muelles
- Vientos sostenidos: 153 - 176 kph
- Marejadas: 1.80 - 2.40 m



Escala 3

- Daños estructurales en edificios pequeños, graves inundaciones en la costa, destrucción de estructuras cercanas a ésta por el embate de las olas y escombros flotantes
- Derrumbe total de los techos de algunas viviendas pequeñas
- Vientos sostenidos: 177 - 208 kph
- Marejadas: 2.70 - 3.60 m



Escala 4

- Inundaciones en zonas bajas situadas a menos de 3m sobre el nivel del mar, a una distancia de 9.5 Km de la costa
- Erosión mayor en las playas. Posiblemente se requiera el desalojo de todas las viviendas situadas a 500m de la playa o a 3km de la costa
- Derrumbe de los techos de muchas casas y fábricas
- Vientos sostenidos: 209- 248 kph
- Marejadas: 3.90 - 5-40 m

**Escala 5**

- Daños en cristales de puertas y ventanas
Derrumbe total de algunos edificios, daños mayores en las plantas bajas de las estructuras situadas a menos de 500 m de la playa.
- Desalojo masivo de zonas habitacionales de áreas bajas situadas de 8 a 16 km de la costa
- Vientos sostenidos: más de 248 kph
- Marejadas: más de 5.40 m



<http://www.yucatan.com.mx/huracan/escala.htm>).